



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA



Estudo do Potencial da Utilização de Espectroscopia para Classificação de Cervejas

Autor: Luiz Gustavo Fracalossi Boff

Orientadores: Luciane Ferreira Trierweiler

Jorge Otávio Trierweiler

Co-orientador: Lucas Ranzan

Sumário	
Agradecimentos	5
Resumo	6
Lista de Figuras	7
Lista de Tabelas	9
Lista de Abreviaturas e Siglas	10
1 Introdução	11
2 Revisão Bibliográfica	12
2.1 História e tipos de cerveja	12
2.1.1 História cervejeira	12
2.1.2 Classificação	12
2.2 Matérias Primas	13
2.2.1 Cevada e Malte	13
2.2.2 Água	14
2.2.3 Lúpulo	15
2.2.4 Adjuntos	16
2.2.5 Leveduras	17
2.3 Processo Cervejeiro	17
2.3.1 Brassagem	18
2.3.2 Fermentação	19
2.3.3 Maturação	20
2.3.4 Filtração	20
2.4 Parâmetros de Qualidade	21
2.5 Métodos Espectrométricos	22
2.5.1 Espectroscopia por Infravermelho	22
2.5.2 Espectroscopia por Fluorescência	24
2.6 Quimiometria	26
2.6.1 Standard Normal Variate (SNV)	26
2.6.2 Média Percentual Absoluta do Erro (MAPE)	27
2.6.3 Erro da soma dos quadrados (SSE)	27
2.6.4 Análise de Componentes Principais (PCA)	27
2.6.5 Modelagem Quimiométrica com Componentes Espectrais Puros (PSCM)	28
2.6.6 Perceptron Multicamadas (MLP)	29
2.6.7 Matriz de confusão (Plot Confusion)	30
3 Materiais e Métodos	31
3.1 Métodos Experimentais	31
3.1.1 Análises quantitativas	31
3.1.2 Espectroscopia por Infravermelho	31
3.1.3 Espectroscopia por Fluorescência	32
3.2 Análise Quimiométrica	33
4 Resultados	35
4.1.1 Análises laboratoriais	35
4.1.2 Metodologias Não Assistidas (PCA)	36
4.1.3 Classificador MLP	38

4.1.4	Metodologias Assistidas (PSCM)	39
5	Conclusões e Trabalhos Futuros	40
	Referências	41

Agradecimentos

Gostaria de agradecer minha mãe pelo incentivo, preparação, valores e ensinamentos incessantes para minha formação. Suas inquietudes e demonstração na importância da educação na formação do indivíduo, me faz cada vez mais acreditar num futuro melhor. Todo mérito deste trabalho foi perante essa educação, carinho, paciência e amor.

A UFRGS pela formação que fomentou eficientemente essa trajetória desde fomento à pesquisa e oportunidades de atividades extracurriculares como Diretório Acadêmico e Empresa Jr., em especial ao DAENQ, onde dediquei bons anos de auxílio e representatividade estudantil e obtive uma excelente base para minha formação.

Agradeço também à cervejaria, na qual obtive excelência no meu aprendizado por dois anos como estagiário e, principalmente, cederam amostras para o desenvolvimento deste trabalho. Aos operadores, verdadeiros cervejeiros, pois a maioria do meu aprendizado técnico e de liderança foram via suas dedicações. Em especial ao time Adegas Fermat, que demonstraram toda força de equipe para atingir resultados enquanto estive ajudando na supervisão.

Meu grupo de amigos “CZEROS”, que tornaram estes anos inesquecíveis. A amizade de vocês sempre foi importante, não só nas horas de provas, mas nas horas de descontração. Obrigado pelos momentos engraçados e todo suporte que vocês propiciaram, como referendado por nossos colegas: “somos amigos desde pequeno”.

Aos meus professores Luciane e Jorge que me permitiram esta grande oportunidade de aprendizagem ao sair da zona de conforto, desenvolver novas habilidades e conhecimentos aqui descritos neste trabalho. Gostaria de agradecer imensamente meu co-orientador Lucas Ranzan, pela paciência e co-operação pelos ensinamentos e para discussão de resultados, sem dúvida foste fundamental neste processo de aprendizagem.

Finalmente, agradeço a todo corpo docente desta universidade, demais colegas aqui não citados e que foram fundamentais para meu crescimento. Acredito que a saída da universidade é apenas um início de um longo caminho, na qual será lapidado diariamente.

Resumo

Atualmente, o setor cervejeiro representa 1,6% do PIB e gera 2,2 milhões de empregos diretos, indiretos e induzidos nas 53 unidades fabris, totalizando 14% da indústria de transformação nacional. Anualmente são fabricados 14 bilhões de litros, atingindo 99% dos lares brasileiros, tornando o Brasil no terceiro maior produtor mundial de cervejas e 27º lugar global em consumo per capita (CERVBRASIL, 2016).

Para manter este mercado, que cresce anualmente sem recessões, é necessário e indispensável o controle de qualidade para manter a repetibilidade do produto, estilo e sensorial da cerveja ao longo das fabricações. O controle de qualidade desde a brassagem até o envasamento permite garantir um produto de sabor agradável e em condições de satisfazer às exigências do consumidor (SILVA; FERREIRA; TEIXEIRA, 2006). Há três pilares importantes que sustentam o controle de qualidade em uma cervejaria, são as análises: físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. A falta de controle de qualidade afeta a padronização da cerveja e promove perdas e desperdícios na produção.

As grandes cervejarias dispõem de equipamentos de alta tecnologia, porém pouco produtivos, práticos e de alto custo de manutenção. Por produzirem menores volumes, estes métodos também restringem o acesso de micro e nano cervejarias, afetando diretamente o controle de qualidade do produto. Sendo assim, surge no mercado uma procura cada vez maior por tecnologias robustas, de alto custo benefício e de livre acesso às grandes e pequenas cervejarias para controle avançado de qualidade.

Este trabalho avalia o uso de técnicas espectrométricas para quantificar e classificar, através dos espectros de FTIR e Fluorescência com o auxílio de técnicas quimiométricas, como o método de Análise de Componentes Principais (PCA) e Modelagem Quimiométrica com Componentes Espectrais Puros (PSCM) para classificação e quantificação das substâncias presentes na cerveja. Pela análise dos espectros foi possível identificar as principais bandas dos grupos funcionais, além de classificar corretamente um pequeno número amostral. Quando se aumentou o número de amostras, o estudo obteve um resultado com erro médio de 48,4%, o que inviabiliza o método empregado. Porém, os resultados quanto a predição com o método PSCM foram promissores para futuros estudos.

Palavras-Chaves: Cerveja, Quimiometria, PCA, PSCM, Controle de Qualidade.

Lista de Figuras

Figura 2-1: Corte de um grão de cevada. Fonte: Adaptada de KUNZE, 1999.	14
Figura 2-2: Célula de levedura de acordo com BRIGGS (2004). (1) plasma, (2) parede celular, (3) membrana plasmática, (4) cicatriz de brotamento, (5) mitocôndria, (6) vacúolo, (7) grânulos de polimetáfosfato, (8) grânulos de lipídio, (9) retículo endoplasmático, (10) núcleo, (11) membrana nuclear e (12) núcleo.....	17
Figura 2-3: Fluxograma básico de uma cervejaria. Adaptado de (AQUARONE, 2001)	18
Figura 2-4: Rampa e temperatura de repouso de mosturação. Fonte: VENTURINI FILHO; NOJIMOTO (1999).....	19
Figura 2-5: Curva de atenuação de extrato classificada por etapa. Adaptado de Aquarone (2001).....	20
Figura 2-6: Espectro de Infravermelho de uma amostra padrão de 2,3 butanodiona. Fonte: NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY (2017)	23
Figura 2-7: diagrama de um espectrômetro com transformada de Fourier. Fonte: SKOOG <i>et al.</i> (2007).....	23
Figura 2-8: Diagrama de níveis de energia mostrando alguns dos processos que ocorrem durante (a) absorção de radiação incidente, (b) relaxação não-radiativa e (c) emissão fluorescente por espécies moleculares. Fonte: SKOOG <i>et al.</i> (2007)	25
Figura 2-9: Espectros de Luminescência Total para ovaleno e antraceno. Fonte: SURYAWANSHI <i>et al.</i> (2016)	25
Figura 2-10: (1) α -ácido, (2) β -ácido e (3) 4-vinil-guaiacol	25
Figura 2-11: Resumo gráfico do método quimiométrico. Adaptado de KUMAR (2014) e ORTIZ (2007)	26
Figura 2-12: Projeção das variáveis nos dois primeiros componentes principais com a discriminação de genótipos de soja- hortaliça. Fonte: TOBAR-TOSSE <i>et al.</i> (2015).	28
Figura 2-13: Representação esquemática do método ACO para seleção de grupos espectrais. Fonte: (RANZAN <i>et al.</i> , 2014)	29
Figura 2-14: Exemplo de entrada de dados em uma estrutura MLP com duas camadas. Fonte: PUMA-VILLANUEVA; DOS SANTOS; VON ZUBEN (2012).....	30
Figura 2-15: Matriz de confusão para treino, validação e teste de um classificador. Fonte: (OLIVEIRA, 2000).....	30
Figura 3-1: Equipamento de IR Frontier FTIR/NIR Spectrometer (PerkinElmer)	32
Figura 3-2: (a) Espectrofluorômetro Fluoromax-4 e (b) cubeta de quartzo com caminho ótico de 1cm.	32
Figura 4-1: Sobreposição de espectros de infravermelho das amostras (a) B1 e (b) C3 de 30 e 60 minutos em banho de ultrassom.....	35
Figura 4-2: Espectros de fluorescência da amostra A1 com 60min em ultrassom.....	36
Figura 4-3: Gráfico do espectro da amostra A3 com 60 minutos em ultrassom, com respectiva análise espectral	36

Figura 4-4: Gráfico de Escores do conjunto de amostras de cervejas em NIR, ressaltando a formação de possíveis grupos de amostras, (a) amostra com pré-tratamento de 30min em ultrassom e (b) 60min..... 37

Figura 4-5: Gráfico de Escores dos dados adquiridos por fluorescência, ressaltando a formação de possíveis grupos amostrais, (a) amostra com pré-tratamento de 30min em ultrassom e (b) 60min..... 37

Figura 4-6: Gráfico de Escores dos dados adquiridos por fluorescência pertencentes ao grupo 2..... 37

Figura 4-7: Matrix de Confusão para o treino (a) e teste (b), no eixo X tem-se a classe real, e em Y a classe predita 38

Lista de Tabelas

Tabela 2-1: Classificação de cervejas segundo legislação vigente	13
Tabela 2-2: Classificação da água quanto à dureza	14
Tabela 2-3: Principais íons presentes na água cervejeira e seu objetivo quanto ao uso. Fonte: REINOLD (1997)	15
Tabela 2-4: Classificação dos tipos de lúpulos. Fonte: KUNZE (1999)	15
Tabela 2-5: Principais componentes do lúpulo. Fonte: BRIGGS (2004).	16
Tabela 2-6: Composição química básica dos diversos cereais (% em peso sobre a matéria seca). Fonte: BRIGGS (2004)	16
Tabela 2-7: Principais funções enzimáticas contidas no malte. Fonte: GOLDAMMER (2008)	18
Tabela 2-8: Principais análises realizadas na indústria cervejeira	21
Tabela 2-9: Principais análises físico-químicas estudadas para quantificação com aplicação de NIR e métodos quimiométricos. Fonte: SILEONI; MARCONI; PERRETTI (2015)	24
Tabela 2-10: Principais métodos quimiométricos e aplicações. Adaptado de CORREA, (2012)	26
Tabela 3-1: Sumário das amostras que foram utilizadas quanto ao grupo amostral	31
Tabela 4-1: Resultados experimentais realizados na cervejaria das amostras do Grupo 1	35
Tabela 4-2: Pares da fluorescência selecionados por PSCM e valores das métricas para avaliação dos melhores modelos para cada saída	39
Tabela 4-3: Bandas do espectro de infravermelho selecionados por PSCM e valores das métricas para avaliação dos melhores modelos para cada saída	39

Lista de Abreviaturas e Siglas

% p/p	Massa de soluto por massa de solução
% v/v	Volume de soluto por volume de solução
EBC	European Brewery Convention
ppm	Partes por milhão
°P	% de sacarose da solução total
KBr	Brometo de Potássio
FTIR	Espectrofotômetro infravermelho com transformada de Fourier
%T	Transmitância
cm ⁻¹	Comprimento de Onda
A	Absorbância
UATR	Universal Reflexão Total Atenuada
ACO	Algoritmo da otimização da colônia de formigas
Ex/Em	Excitação/Emissão
IR	Infravermelho
PCA	Principal Component Analysis
PC	Principal Component
PLS	Partial Least Squares
PSCM	Pure Spectra Components Modeling
SSE	Erro da soma dos quadrados
MAPE	Média Percentual Absoluta do Erro
MLP	Multi-Layers Perceptron

1 Introdução

Quando o cliente escolhe a qualidade da cerveja que deseja beber, ele exige que sua bebida mantenha o “grau” de excelência e padrão. A arte das cervejarias é, portanto, atender à exigência do cliente e sempre estar preocupado com as variáveis de processo e controle de qualidade. Manter este padrão é o grande desafio para a produção contínua nas cervejarias, pois há uma grande variabilidade na produção de matérias primas por questões biológicas dos insumos (BRIGGS, 2004).

A cerveja é produzida em uma cervejaria, a qual constitui-se por processos de brassagem, onde se utilizam grãos como fonte de amido (cevada, trigo, milho e arroz) para produção de açúcares, que é a principal fonte de alimento para o fermento. Na fermentação, o fermento utiliza o açúcar livre no seu metabolismo e consequentemente fornecer um produto ímpar e com características organolépticas próprias. A utilização do lúpulo contribui para a formação de sabor, aroma e principalmente contribui na estabilidade da cerveja ao agir como conservante natural (MEILGAARD; DALGLIESH; CLAPPERTON, 1979). Cada cerveja apresenta características e propriedades únicas, isso deve-se ao seu processo de fabricação e qualidade físico-química de seus ingredientes. O consumidor final indiscutivelmente prefere uma cerveja que não tenha variedade discrepante de qualidade, muito menos erros bruscos de produção.

O uso de classificadores de acordo com as marcas de cervejas é importante devido as grandes incidências de adulteração e perda de qualidade das marcas ao longo dos anos. A utilização de espectroscopia em conjunto com quimiometria tem a grande capacidade para classificar e talvez posteriormente quantificar substâncias presentes nas cervejas. A espectroscopia por fluorescência tem alta sensibilidade e seletividade, no entanto, apenas uma pequena porção de compostos apresentam naturalmente fluorescência, como α -ácidos, β -ácidos e polifenóis que estão presentes nos principais insumos cervejeiros. Já o uso da técnica de infravermelho na análise de qualidade cervejeira é bastante empregado, visto que atualmente já são feitas quantificações de álcool, extrato aparente, Nitrogênio Amino Livre e açúcares, como descritos nos métodos padronizados da *European Brewery Convention* (2015)

O objetivo deste trabalho é avaliar o potencial das técnicas de espectroscopia por fluorescência e infravermelho na discriminação de cervejas (classificação). Este é um estudo inicial, a sua continuidade visa desenvolver metodologias para quantificação em linha e controle de diversos parâmetros importantes ao longo do processo cervejeiro, visando manter a repetibilidade e ganho de *share* da marca no mercado devido ganho de qualidade.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 História e tipos de cerveja

2.1.1 História cervejeira

Nessa seção está baseada na seguinte citação de Aquarone (2001), sendo abordado o breve histórico sobre a cerveja.

Já é conhecido que a cerca de 5.000 anos, os sumérios são considerados como pioneiros de elaboração de cerveja (século IV a.C.). Na qual, foram sucedidos pelos egípcios, babilônios, gregos, romanos e germanos. Os babilônios já produziam 20 tipos diferentes de cervejas, sendo 8 constituídos apenas de cevada. Eles não filtravam a cerveja que era ingerida por meio de canudos. Os aspectos de produção e comercialização eram regulamentados e controlados pelo governo, sendo a venda de cerveja, a visitação às tavernas e o preço máximo da cerveja, bem como o volume a ser produzido para cada camada da população, eram regulamentados por lei. Quanto mais elevado o cargo, maior era o consumo da cerveja. Em solo alemão, o documento mais antigo sobre a produção de cerveja data de 800 a.C. Durante a Idade Média eram os conventos os responsáveis pela fabricação da cerveja, na qual deve-se aos monges o hábito da utilização do lúpulo como fator de amargor.

Os monges aperfeiçoaram a tecnologia cervejeira e serviram, de certo modo, como vendedores por atacado. A cerveja foi usada na Idade Média como mercadoria para comércio, pagamento e impostos. Assim que as cidades cresceram, as operações comerciais simples se desenvolveram e tornou-se prática comum a produção de cerveja e a sua venda num mesmo estabelecimento. No século XIV, a cidade de Hamburgo, no norte da Alemanha, era o centro cervejeiro da Europa, lar de mais de mil mestres cervejeiros. Os conventos mais antigos que iniciaram a produção de cerveja foram os de St. Gallen, na Suíça, Weihestephan em Freising e St. Emmeran em Regensburg; esses dois últimos, na Alemanha.

Na Antiguidade, usava-se para a elaboração de cerveja toda espécie de ingredientes tais como: folhas de pinheiros, ervas em geral e cerejas silvestres, com resultados, por vezes fatais. Para então regularizar o processo de fabricação da cerveja, o Duque Guilherme IV da Baviera (Alemanha) decretou, em 1516, a "Lei de Pureza" (*Reinheitsgebot*). Essa lei é a mais antiga e mais conhecida do mundo, sobre a manipulação de alimentos (legislação de produtos alimentares). Determina os ingredientes que podem ser usados para a produção da cerveja, tais como: Cevada, lúpulo e água. A levedura de cerveja ainda não era conhecida e só mais tarde foi incluída nesta lei. Enquanto, na Antiguidade, o que caracterizava o processo de fabricação de cerveja era a experiência e a tradição, a partir do século XVIII, o fabrico da cerveja é determinado pela ciência e pela técnica.

2.1.2 Classificação

Atualmente as bebidas brasileiras são regulamentadas de acordo com o decreto de número 6871 de 4 de junho de 2009, que tem por objeto estabelecer as normas de identidade e qualidade a que deverão obedecer às cervejas, exemplo, são classificadas em bebidas alcoólicas e não alcoólicas, assim como a quantidade máxima permitida por adjunto. O decreto ainda define a cerveja como sendo a bebida obtida pela fermentação alcoólica do mosto cervejeiro oriundo de malte de cevada e água potável, por ação da

levedura, com adição de lúpulo., sendo a cerveja dividida em baixa fermentação e alta fermentação (BRASIL, 2009). As cervejas são classificadas como mostrado na Tabela 2-1.

Tabela 2-1: Classificação de cervejas segundo legislação vigente.

Parâmetros	Classificação	Faixas de concentração
Tipo de fermentação	Alta fermentação	-
	Baixa fermentação	-
Extrato primitivo %(p/p)	Fraca	<7,0 a 11,0
	Normal	11,0 a 12,5
	Extra	12,5 a 14,0
	Forte	≥14,0
Cor (EBC)	Clara	<15
	Escura	≥15
Teor alcoólico %(v/v)	Sem álcool	<0,5
	Baixo teor alcoólico	0,5 a 2,0
	Médio teor alcoólico	2,0 a 4,5
	Alto teor alcoólico	≥4,5
Extrato aparente %(p/p)	Baixo teor	<2,0
	Médio teor	2,0 a 7,0
	Alto teor	≥7,0
Adjuntos %(p/p)	Extra	>10
	Clara	>15
	Escura	>50

2.2 Matérias Primas

Introduzida na Alemanha em 1516, a "lei de pureza da cerveja" (*Reinheitsgebot*), permite, apenas, para a elaboração das cervejas, a utilização das seguintes matérias-primas: Cevada, Água e Lúpulo. O uso indiscriminado de cereais não maltados levou a criação da “Lei de Pureza”, porém, algumas escolas cervejeiras continuaram a utilizar estes cereais para adicionar sensoriais e características diferenciadas ao produto, além de redução de despesas com matérias primas empregadas na fabricação, uma vez que a cevada produzida no Brasil não supre a demanda.

2.2.1 Cevada e Malte

A cevada é a matéria-prima principal para a fabricação da cerveja, sendo a precursora do malte. O malte é resultante da umidificação, germinação e secagem da cevada sob condições controladas em uma maltaria. Várias razões indicam a cevada como o melhor cereal a ser utilizado no processamento de elaboração do malte e da cerveja, pois possui um alto teor de amido. A parte externa, casca, permanece no grão após a debulhagem (extrair os grãos ou sementes durante a colheita) e forma uma camada filtrante no processo de clarificação. O teor de proteína está presente numa proporção ideal em relação ao amido, essencial para a formação de espuma e a existência de agentes importantes (enzimas) na cevada ou que se formarão durante a malteação (KUNZE,

1999). O grão de cevada tem uma morfologia bastante característica, as principais partes do grão de cevada estão expostas na Figura 2-1.

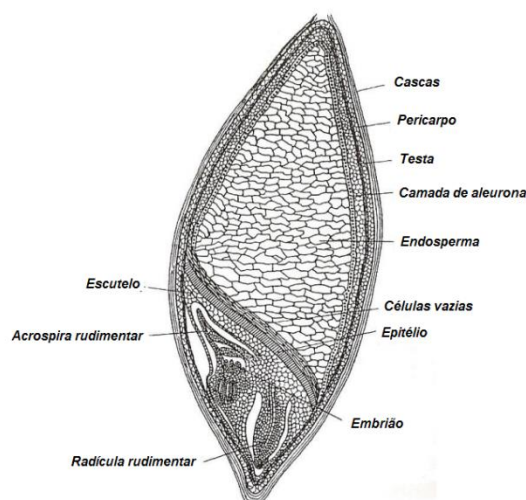


Figura 2-1: Corte de um grão de cevada. Fonte: Adaptada de KUNZE, 1999.

2.2.2 Água

A concentração de certos minerais presentes na água para produção de cerveja influencia diretamente todo sensorial da cerveja, de forma que as concentrações desses sais determinarão a dureza da água. Os principais sais são: bicarbonato, sódio, cloreto, sulfato, cálcio e magnésio. Pela soma destes íons é possível determinar o índice de dureza da água, em ppm, e classificar conforme a Tabela 2-2:

Tabela 2-2: Classificação da água quanto à dureza

Classificação	Concentração (ppm)
Água Mole	50
Água dureza Média	51 a 100
Água dura	111 a 200
Água super dura	>200

Uma água dura tende a possuir um pH mais alto, sendo mais indicada para a produção de cervejas escuras, pois, com a grande adição de grãos caramelizados, tostados e/ou torrados, o pH tende a diminuir bastante. Enquanto a água com menor dureza, é ideal para a fabricação de cerveja mais claras, como a pilsen. As concentrações de Ca^{2+} também são fundamentais para a ação tamponante, fundamental na etapa de brassagem, e também auxilia quanto ao sensorial proveniente do lúpulo. As características da água são corresponsáveis pelo paladar individual de cada cerveja e no final, também determinantes na qualidade da cerveja (REINOLD, 1997). A Tabela 2-3 demonstra os efeitos de cada íon durante o processo cervejeiro.

Tabela 2-3: Principais íons presentes na água cervejeira e seu objetivo quanto ao uso.
Fonte: REINOLD (1997)

Cálcio (Ca ²⁺)	Magnésio (Mg ²⁺)	Bicarbonato (HCO ₃ ¹⁻)	Sódio (Na ⁺)	Sulfato (SO ₄ ²⁻)	Cloreto (Cl ⁻)
Diminui o pH na fervura do mosto	>50 ppm favorece um sabor amargo ou azedo	Aumenta o pH do mosto	70 - 150 ppm acentua a doçura do malte	Acentua amargor do lúpulo	Acentuar a doçura do malte
Colabora com a claridade e estabilidade	10 - 20 ppm é excelente nutriente para a levedura	Contribui para a dureza permanente	>200ppm conferem sabor salgado/mineral	> 400 ppm pode tornar-se muito adstringente	>250 ppm confere sabor salgado
Concentração ideal: 50 – 150ppm		0-50 ppm para Pale 50-150 ppm de cor âmbar 150-250 ppm para escuras	Cervejas claras e secas não devem ultrapassar 50ppm	50-150 ppm para cervejas amargas 150-350 ppm para cervejas muito amargas	>300 ppm impacta na atividade das leveduras

2.2.3 Lúpulo

O lúpulo pertence em parte à família das Moráceas e à família das *Canabináceas Cânhamo*, mas atualmente, é de aceitação geral, a origem do gênero *Humulus*, espécie *Lupulus*. É uma planta trepadeira grande e que produz talos anuais a partir de rizomas (cepas) perenes, ricas em carboidratos, que se convertem em novas plantas com formação de talos e profundas raízes. As espécies de lúpulo são dióicas, por produzirem normalmente flores masculinas e femininas em plantas separadas. As variedades aceitas para as cervejarias são cultivos selecionados de plantas que produzem flores femininas, cujos frutos denominamos de umbelas ou cones e que aparecem agrupadas em forma de cachos (KUNZE, 1999).

Para o emprego da dosagem correta é de grande importância conhecer os tipos diferentes do lúpulo, a Tabela 2-4 apresenta a classificação dos lúpulos:

Tabela 2-4: Classificação dos tipos de lúpulos. Fonte: KUNZE (1999)

Grupo A Lúpulo aromático fino	Grupo B Lúpulo aromático	Grupo C Lúpulo de amargor
Spalter Tettnanger Saazer	Hallertauer Aroma Hallertauer Perle Hallertauer Hüller Hallertauer Hersbrucker Hersbrucker Steirer Strisselspalter Cascade Fuggles	Hallert Nordbrauer Hallert Goldbrauer Orion Cluster Bullion Target Nuggets Hallert Magnum

Os componentes principais do lúpulo para o processo cervejeiro estão demonstrados na Tabela 2-5:

Tabela 2-5: Principais componentes do lúpulo. Fonte: BRIGGS (2004).

Componentes	Concentração % (p/p)
Óleos essenciais	0,5 a 2,0
Substâncias tânicas e polifenóis	4,0 a 14
Substâncias amargas	11,0 a 22,0

O restante dos componentes, até 100%, são: proteínas, celulose, substâncias minerais, etc., que, para o processo cervejeiro, não tem grande importância. Somente a proteína tem influência sobre as características da espuma da cerveja. Os principais provedores de amargor na cerveja são as resinas, as substâncias amargas não são formadas de uma única substância e, sim, de várias, constituídas quimicamente pelos subgrupos de ácidos amargos e resinas, sendo denominadas conjuntamente de resinas totais. As principais resinas são os α -ácidos e β -ácidos.

Os α -ácidos inicialmente, ainda insolúveis, deverão ser transformados em substâncias solúveis durante o processo de cozimento do mosto, forma isomerizada. Esse processo de solubilização denomina-se "isomerização" e os produtos transformados em solúveis (isomerizados), denominam-se de "iso-alfa-ácidos".

β -ácidos não são solúveis no mosto e nem na cerveja. Durante a fervura do mosto, portanto, não se pode esperar nenhuma transformação importante e nem detectar nenhuma alteração no amargor, conseqüentemente esta resina é a principal responsável pelo amargor na cerveja.

2.2.4 Adjuntos

Adjuntos são todos os materiais ricos em carboidratos, com uma composição e propriedades apropriadas, para complementar de forma benéfica e rentável, a principal matéria prima empregada na elaboração de cervejas, o malte de cevada

A maioria das cervejarias utilizam atualmente alguma forma de adjunto cervejeiro como suplemento ao malte de cevada, sendo que cada cervejaria define a razão adjunto/malte. Esses adjuntos variam consideravelmente em sua composição no que se refere aos carboidratos, nitrogênio, lipídios e sais minerais que contem e, são empregados expressamente por sua influência na regulação da composição do mosto resultante. Os adjuntos cervejeiros mais utilizados são aqueles derivados dos cereais de milho e arroz, suas características mais relevantes para o processo estão relacionadas na Tabela 2-6:

Tabela 2-6: Composição química básica dos diversos cereais (% em peso sobre a matéria seca). Fonte: BRIGGS (2004)

Cereal	Amido (% p/p)	Lipídios (% p/p)	Proteínas (% p/p)
Cevada	55 a 65	2 a 3	9,5 a 11,5
Trigo	76	2	14,5
Centeio	74	2	13,5
Aveia	61	6,1	13,4
Milho	70	5,8	11,6
Sorgo	70,7	3	10,9
Arroz	81	0,5	9

2.2.5 Leveduras

A levedura é um microrganismo unicelular responsável, na cervejaria, pela fermentação alcoólica que obtém a sua energia na presença de oxigênio (aeróbio) durante a fase de respiração e na ausência de oxigênio (anaeróbio) durante a fase de fermentação (BRIGGS, 2004), a Figura 2-2 esquematiza a morfologia de uma célula de levedura.

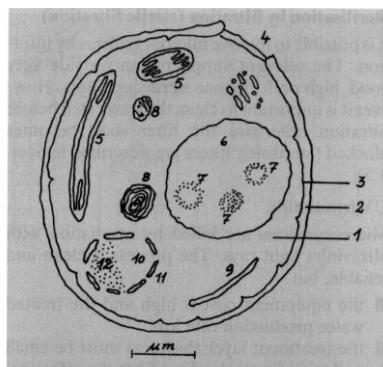


Figura 2-2: Célula de levedura de acordo com BRIGGS (2004). (1) plasma, (2) parede celular, (3) membrana plasmática, (4) cicatriz de brotamento, (5) mitocôndria, (6) vacúolo, (7) grânulos de polimetáfosfato, (8) grânulos de lipídio, (9) retículo endoplasmático, (10) núcleo, (11) membrana nuclear e (12) núcleo

A fermentação nada mais é que uma manifestação da multiplicação da levedura. Dessa forma, é possível concluir que a cerveja é o subproduto dessa atividade. Assim, a cepa de levedura é escolhida não apenas de acordo com as propriedades desejáveis para a fermentação como também por sua capacidade de produzir cerveja com a composição adequada. A assimilação de nutrientes no mosto pela levedura resulta nas seguintes reações de fermentação:



Durante a fermentação, formam-se, além de álcool e gás carbônico, uma série de produtos intermediários de fermentação, os quais possuem destacada importância na qualidade do aroma e do paladar da cerveja. São decisivos, em última análise, pela qualidade da cerveja obtida.

Como durante a fermentação alcoólica ocorre uma intensa liberação de calor, a temperatura tende a se elevar incontrolavelmente. Por isso, os recipientes de fermentação devem estar equipados com instalações de refrigeração para o correto controle da temperatura.

2.3 Processo Cervejeiro

Para fins de controle de processo, a produção de cerveja pode ser dividida em 3 grandes grupos: Brassagem, Fermentação e Filtração. A Figura 2-3 exemplifica bem o fluxograma de processo segregado por áreas.

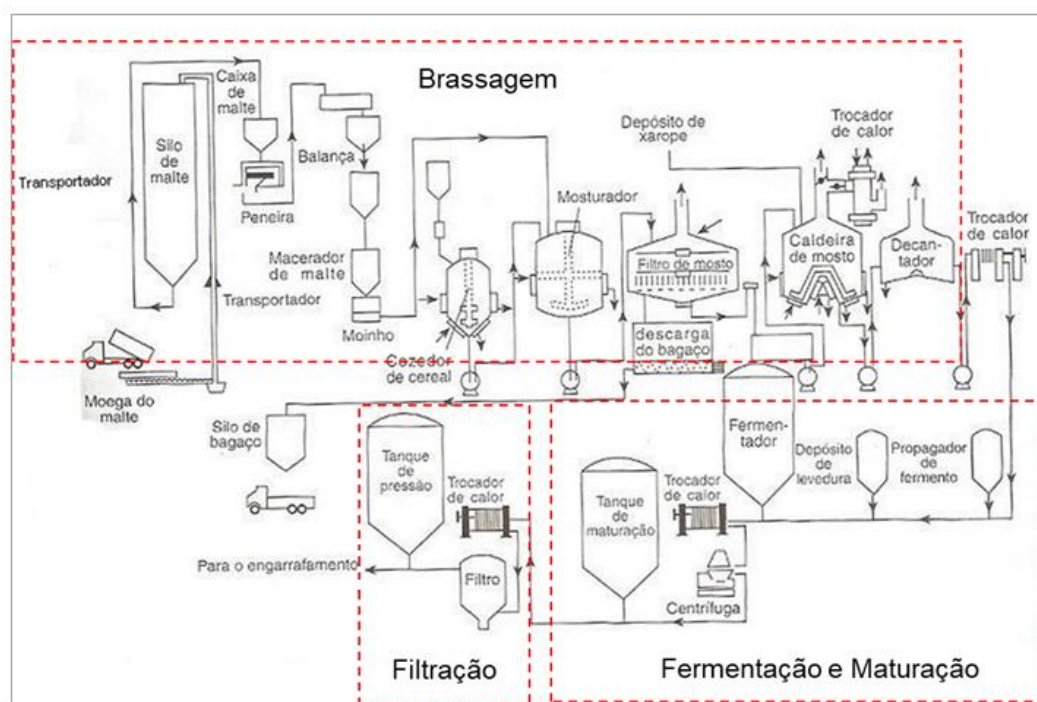


Figura 2-3: Fluxograma básico de uma cervejaria. Adaptado de (AQUARONE, 2001)

2.3.1 Brassagem

É nesta etapa que ocorre a transformação das matérias-primas cervejeiras em mosto, que tem como objetivo transformar, com ajuda de enzimas, os amidos contidos no malte em açúcares. É também nesta etapa que se adiciona a mistura de malte e adjuntos. O mosto contém de 10 a 15% substâncias provenientes do malte e, principalmente, solúveis em água. As enzimas contidas no próprio grão, descritas na Tabela 2-7, ou adicionadas posteriormente são responsáveis por hidrolisar 85 a 95% de produtos no mosto (GOLDAMMER, 2008).

Tabela 2-7: Principais funções enzimáticas contidas no malte. Fonte: GOLDAMMER (2008)

Enzimas	Funções
Amilases	Convertem o amido em açúcares fermentescíveis (maltose principalmente) e dextrina não fermentável;
Proteases	Produzem peptídeos e aminoácidos pela digestão de proteínas;
Fosfatases	Liberam íons fosfato orgânicos para o mosto;
Betaglucanas	Hidrolisam o carboidrato betaglucano.

As reações enzimáticas iniciam-se no processo de maltagem, na qual são aceleradas na mosturação, pois encontram condições ótimas de temperatura e pH, além da presença de grande quantidade de água.

A variedade de cervejas deve-se muito aos parâmetros de processo, principalmente controle de temperatura e pH na mosturação. Este processo na mosturação é

determinado pelas rampas de temperatura e repousos, que tem como objetivo influenciar uma determinada enzima ter seu melhor desempenho e, conseqüentemente, mudar a característica do mosto. O processo de mosturação e controle de temperatura é representado na Figura 2-4 com as rampas e repousos.

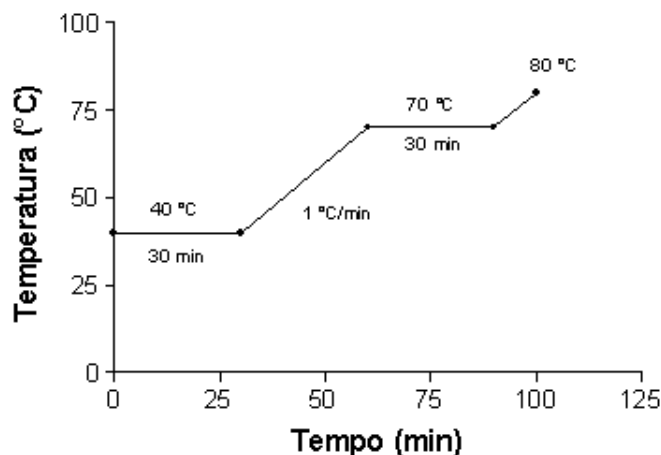


Figura 2-4: Rampa e temperatura de repouso de mosturação. Fonte: VENTURINI FILHO; NOJIMOTO (1999)

2.3.2 Fermentação

A fermentação é a principal etapa dentro do processo de produção de cerveja. É durante essa etapa que ocorre a transformação do mosto (concentrado de açúcares provenientes do malte e dos adjuntos) em cerveja. Suas faixas de temperaturas são conforme o tipo de fermento que variam de 10°C para baixa fermentação e 18°C para alta fermentação.

Nessa etapa, se formam também a maioria dos compostos responsáveis pelo aroma e paladar da cerveja.

Objetivo da fermentação é conduzir as interações dos parâmetros de processo para obter a cerveja com características organolépticas, químicas e físico-químicas desejadas.

Ao longo da fermentação, além da reação transformando açúcar em álcool e CO₂, o fermento executa várias outras reações em paralelo. Para garantir sempre as mesmas características da cerveja, é fundamental utilizar um fermento puro, que é proveniente de uma mesma origem, sem nenhum tipo de mutação misturada e principalmente nenhum contaminante presente, tais como bactérias ou leveduras selvagens (KUNZE, 1999).

A fermentação de uma cerveja possui várias etapas e reações, entre elas destacam-se: recebimento do mosto aerado após a brassagem, dosagem do fermento, retirada do trub frio (remanescente de particulados sedimentados), início da fermentação (multiplicação celular), *Krausen* baixo (formação de álcool e CO₂), *Krausen* Alto (formação e redução do diacetil) e recolha do fermento. A Figura 2-5 exemplifica graficamente os períodos de cada etapa durante a fermentação de um lote:

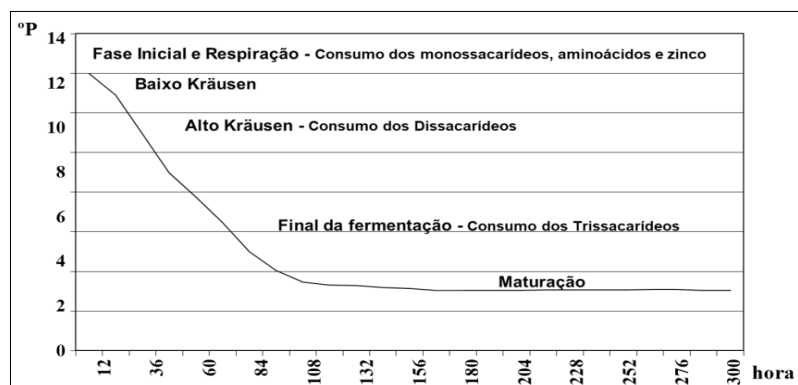


Figura 2-5: Curva de atenuação de extrato classificada por etapa. Adaptado de Aquarone (2001)

2.3.3 Maturação

O principal objetivo da maturação de uma cerveja é o amadurecimento dos componentes de aroma e paladar contidos na cerveja recém fermentada, geralmente trabalhando em faixas de temperaturas de -2°C a 0°C . Além disto ocorrem transformações durante a maturação, como: queda de extrato, cabonatação (formação de CO_2), clarificação da cerveja pela formação e sedimentação de substâncias turvadoras, e a principal é o amadurecimento e estabilização do aroma e paladar.

Durante a maturação, as substâncias aromáticas que dão à cerveja um paladar seco e agressivo se transformam em substâncias mais nobres através de reações químicas (substâncias amargas e adstringentes são transformadas em substâncias agradáveis e finas, aldeídos são transformados em ésteres). A cerveja perde seu paladar típico de cerveja nova (sedimentação da levedura) e as bolhas ascendentes de CO_2 eliminam substâncias sulfurosas (SO_2) de influência negativa no paladar.

2.3.4 Filtração

Após o término da operação de maturação, as substâncias em suspensão, que foram formadas durante as etapas anteriores do processamento cervejeiro, que estarão amplamente sedimentadas. O nível ou padrão de qualidade é determinado, exclusivamente, pelas expectativas e aceitação do consumidor, sendo ele quem qualifica a cerveja, basicamente, pelos seguintes fatores: cor agradável, paladar uniforme e refinado, aspecto límpido no copo, apresentação de alto brilho (para cervejas tipo *Pilsen*) e longa durabilidade e repetibilidade.

Atualmente, as cervejarias dedicam-se exaustivamente à aplicação de recursos técnicos e tecnológicos para atender, cada vez mais, às exigências e expectativas dos consumidores. Através de extensos conhecimentos práticos, adquiridos durante os processos tecnológicos de elaboração de cerveja, fica notório que são exatamente as substâncias remanescentes na cerveja, sólidas ou na forma coloidal, responsáveis pelas perturbações ou turvações que o consumidor identifica como deficiências de qualidade. Às vezes, tais componentes, tão finamente dispersos, não são identificados a olho nu. Sua presença, entretanto, pode ser percebida sob condições posteriores variáveis, como: temperatura, duração na maturação e teor de oxigênio.

O objetivo da filtração é, essencialmente, remover da cerveja tudo o que possa causar alterações posteriores, independentemente das influências externas.

2.4 Parâmetros de Qualidade

A indústria cervejeira tem uma demanda cada vez maior na qualidade de produtos, que devem satisfazer os parâmetros de controle de qualidade antes da comercialização. Para conseguir isso, a indústria precisa de técnicas eficientes para monitorar os parâmetros de qualidade. Existem diferentes métodos para compreender e caracterizar a qualidade das bebidas ou para quantificar compostos, tanto gravimétricos, quanto instrumentais.

A maioria dos métodos químicos úmidos são tóxicos e envolvem produtos químicos perigosos, além de consumir tempo no preparo e análise. Assim, as diversas técnicas de laboratório foram aperfeiçoadas com o tempo para alcançar este objetivo. Atualmente há inúmeras pesquisas referente à métodos baseados em espectroscopia e bioindicadores, pois possuem maior confiabilidade e menor tempo de análise (WANG et al., 2017).

Ao contrário das grandes indústrias cervejeiras, as microcervejarias são altamente dependentes da disponibilidade de leveduras, malte e lúpulo disponíveis no mercado, que variam suas propriedades a cada lote. Com infraestrutura limitada, principalmente tratando-se de disponibilidade de análises efetivas, os cervejeiros artesanais dependem de cursos com alto investimento agregado e não disponibilizam incentivo e nem suporte próprio a pesquisas. Todo esse processo resulta em produtos não uniformes e novas receitas não caracterizadas de maneira eficiente.

A qualidade é um instrumento fundamental para obter vantagens no mercado, assim como classificação da cerveja obtida, com foco principalmente no gosto do consumidor. Um produto classificado e com alto padrão de qualidade é o resultado de um produto com alta reprodutibilidade e um excelente controle de processo. As análises cruciais, determinadas na Tabela 2-8, para o produto acabado são: turbidez, espuma, pH, cor, álcool, dicetonas vicinais e amargor, pois são as características mais notadas pelo consumidor.

Tabela 2-8: Principais análises realizadas na indústria cervejeira

Análises	Glossário
Turbidez	Presença de partículas em suspensão que interferem com a passagem da luz
Espuma	A espuma é a responsável por liberar o aroma da cerveja, formada por CO ₂ , é medida pelo tempo de retenção no copo
Dicetonas vicinais	2,3 butanodiona e 2,3 pentanodiona são formados pela metabolização da levedura e é caracterizada por formar <i>off flavour</i> remetente a "manteiga"
Amargor	Concentração de iso- α -ácidos, caracterizando um amargor marcante no paladar
Extrato Aparente	Extrato considerando a presença de álcool, após fermentação, responsável por medir açúcares residuais
Extrato Primitivo	Extrato presente na brassagem, principal indicador para fermentação

Porém, quando se trata de controle de processo há outras análises amplamente necessárias, como: teste de iodo, polifenóis, oxigênio total, CO₂, metais (níquel, cobre e ferro), FAN (Nitrogênio Amino Livre), contagem de células, flavonoides e α -ácidos (EBC ANALYSIS COMMITTEE.; EUROPEAN BREWERY CONVENTION., 2015).

2.5 Métodos Espectrométricos

As análises baseadas em radiação e fontes luminosas em forma de radiação eletromagnética são amplamente empregadas na química analítica. Os métodos espectroscópicos baseiam-se na medida da quantidade de radiação produzida ou absorvida pelas moléculas ou pelas espécies atômicas de interesse. Pode-se classificar os métodos espectroscópicos de acordo com a região do espectro eletromagnético (SKOOG et al., 2007). Os métodos quantitativos óticos já são realidade dentro da indústria cervejeira, sendo amplamente utilizados para testes de controle de qualidade de matérias-primas, intermediários e produtos acabados, bem como o acompanhamento do processo durante a maltagem e fabricação de cerveja. Idealmente, a avaliação da qualidade e métodos de controle de processo rotineiramente utilizados na fabricação de alimentos devem ser não invasivos, não destrutivos e rápidos o suficiente para garantir o processamento eficiente. O desenvolvimento de métodos analíticos com resultados instantâneos além de aumentarem a eficiência de processo, diminuem tempo, custos e aumentam a qualidade ao longo da cadeia produtiva (SILEONI; MARCONI; PERRETTI, 2015).

A implementação de sensores óticos para o controle de processos de fabricação e maltagem vem sendo amplamente estudados para aperfeiçoar os processos e melhorar de maneira preditiva os parâmetros de qualidade, que atualmente são realizados de maneira invasiva, com o uso de produtos químicos caros e promovendo exposição a produtos tóxicos (WANG et al., 2017). Os dois métodos óticos apresentados neste trabalho serão IR-FTIR e Fluorescência, a fim de classificação das diversas variedades de amostras e da quantificação de compostos de interesse.

2.5.1 Espectroscopia por Infravermelho

A espectroscopia de infravermelho (IR) baseia-se na medição do estiramento, flexão e torção de ligações covalentes em grupos funcionais presentes em uma amostra após a exposição ao infravermelho de radiação. As ligações covalentes que exibem um momento dipolar, C-C, C-H, O-H, C=O e N-H, podem absorver radiação infravermelha em diferentes frequências características, dependendo das massas dos átomos e a força das ligações (SKOOG et al., 2007). As frequências vibratórias são úteis para a identificação de grupos funcionais e determinação estrutural.

As regiões do espectro eletromagnético de infravermelho são divididas em infravermelho próximo (NIR), 14000 a 4000 cm⁻¹, MIR (infravermelho médio), 4000 a 400 cm⁻¹ e infravermelho distante (FIR), 400 a 20 cm⁻¹. A Figura 2-6 representa o espectro de infravermelho da substância 2,3 butanodiona, conhecida por ser um *off flavour* da cerveja.

As bandas nos espectros de infravermelho têm suas posições apresentadas em comprimento de onda (μm) ou número de ondas (cm⁻¹) e absorbância (A) ou intensidade das bandas em transmitância (%T), exemplificadas na Figura 2-6. A absorbância é representada matematicamente como logaritmo decimal do inverso da transmitância, já

a transmitância é a razão entre energia transmitida e radiante, na qual é emitida pela amostra.

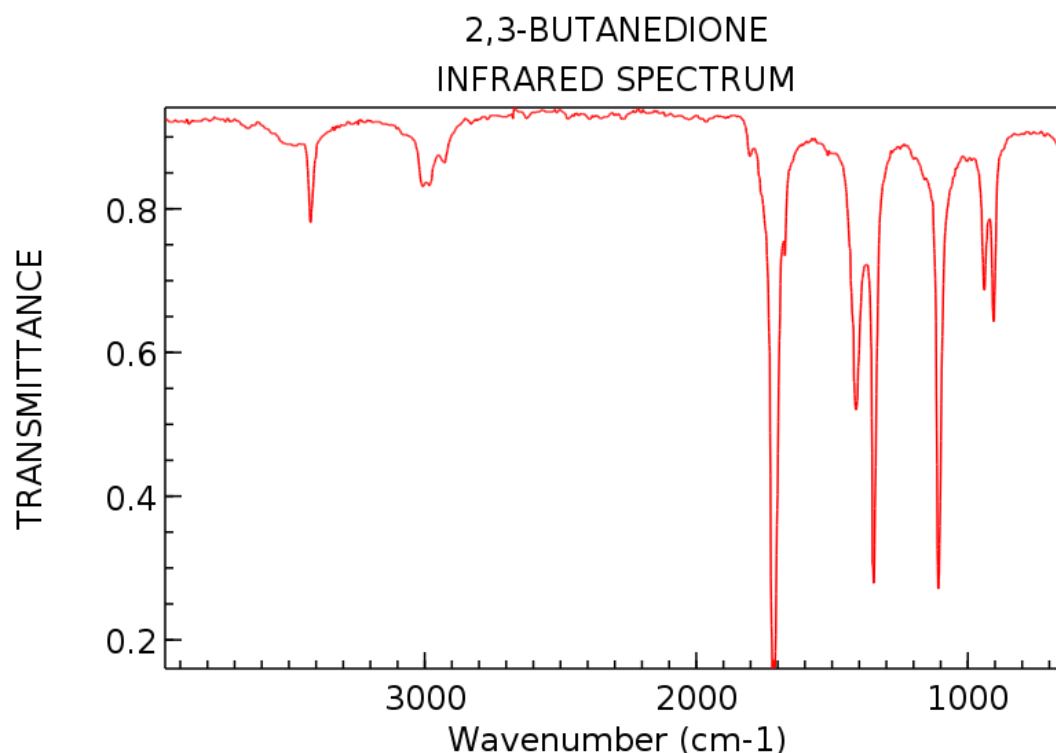


Figura 2-6: Espectro de Infravermelho de uma amostra padrão de 2,3 butanodiona.
Fonte: NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY (2017)

Por apresentar grande sensibilidade, a espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier é capaz de apresentar evidências da presença de grupos funcionais nas substâncias analisadas, podendo ser usada para identificar compostos ou composição química, pois cada grupo funcional terá uma absorção própria. A Figura 2-7 demonstra um diagrama de funcionamento prático do espectrômetro, na qual a radiação no infravermelho passa através da amostra e é comparada com aquela transmitida na ausência de amostra, registrando o resultado na forma de bandas de absorção.

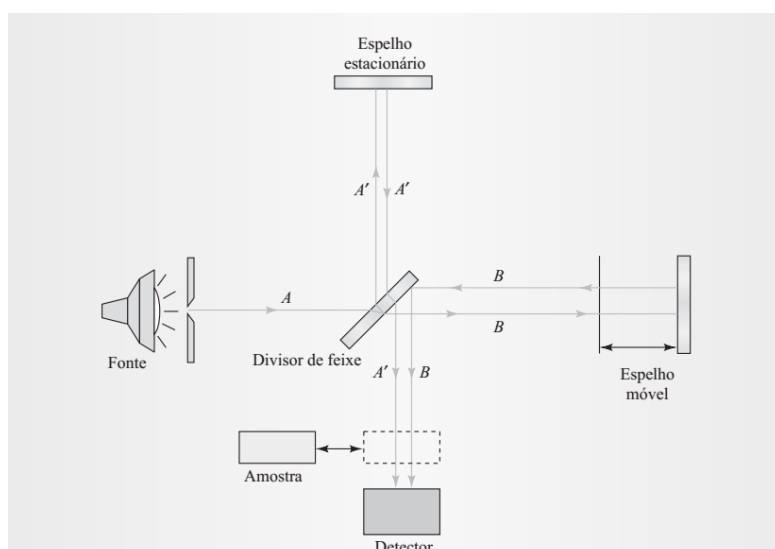


Figura 2-7: diagrama de um espectrômetro com transformada de Fourier. Fonte: SKOOG *et al.* (2007)

Atualmente a indústria cervejeira já utiliza equipamentos com princípio de infravermelho, como o Alcolyzer® da empresa Anton Paar, o qual tem capacidade de medir teor de álcool. A Tabela 2-9 apresenta as principais análises realizadas em estudos, com diferentes técnicas quimiométricas.

Tabela 2-9: Principais análises físico-químicas estudadas para quantificação com aplicação de NIR e métodos quimiométricos. Fonte: SILEONI; MARCONI; PERRETTI (2015)

Parameters	Chemometric treatment	Instrument	Spectral pretreatment	Nº samples	Results	Reference
Alcohol	MLR	—	—	—	SEP: 0.1% v/v	Coventry and Hunston, 1984 Halsey, 1985
Alcohol	—	—	FD	186	SEP: 0.07% v/v	
Original gravity	—	—	FD	186	SEP: 0.94°P	
FAN	PLS	DESIR-NIR	SNV + detrend	65	SEP: 4.3 mg·L ⁻¹	Chandley, 1993
TSN	PLS	DESIR-NIR	SNV + detrend	65	SEP: 25 mg·L ⁻¹	
Bitterness	PLS	DESIR-NIR	FD	65	SEP: 4.3 EBU	
Original extract	iPLS	Scanning NIR	Autoscale	60	RMSEP: 0.17°P, R: 0.998	Norgaard et al., 2000 Engelhard et al., 2004 Zanker and Benes, 2004
Alcohol	Regression	Scanning NIR	—	34	SEP: 0.08% v/v	
Alcohol	—	Alcolyzer NIR	—	203	r ₉₅ : ± 0.04% v/v	
Original extract	PLS	Scanning NIR	FD	43	RMSEP: 0.22–0.28% w/w	Inón et al., 2005
Real extract	PLS	Scanning NIR	FD	43	RMSEP: 0.14–0.15% w/w	
Alcohol	PLS	Scanning NIR	FD	43	RMSEP: 0.08–0.09% v/v	
Original extract	PLS	ATR-FTIR	—	45	RMSEP: 0.20% w/w	Llario et al., 2006
Real extract	PLS	ATR-FTIR	—	45	RMSEP: 0.075–0.107% w/w	
Alcohol	PLS	ATR-FTIR	—	45	RMSEP: 0.12–0.14% v/v	
Original extract	ANN	MIR + NIR	—	43	RMSEP: 0.14% w/w	Inón et al., 2006
Real extract	ANN	MIR + NIR	—	43	RMSEP: 0.076% w/w	
Alcohol	ANN	MIR + NIR	—	43	RMSEP: 0.14% v/v	
Alcohol	PLS	NIR + refractometry	LBC	78	RMSEP: 0.12% v/v	Castritius et al., 2010
Real extract	PLS	NIR + refractometry	LBC	78	RMSEP: 0.11% w/w	

2.5.2 Espectroscopia por Fluorescência

A fluorescência é um processo de fotoluminescência no qual os átomos ou moléculas são excitados por absorção de radiação eletromagnética. As espécies são excitadas e após retornam ao seu estado fundamental, liberam excesso de energia na forma de fótons (SKOOG *et al.*, 2007). Este procedimento tem a vantagem de ser até três vezes mais sensível que a espectroscopia de infravermelho. O Diagrama de Jablonski, apresentado na Figura 2-8, demonstra o processo de absorção e emissão de luz, exemplificando o funcionamento da análise espectrométrica.

Os dados de Espectroscopia por Fluorescência podem ser representados tridimensionalmente ou em gráficos de curva de nível, pois são formados por Espectros de Luminescência Total ou Espectro Fluorescente 2D. Os gráficos apresentam simultaneamente o sinal de luminescência em função dos comprimentos de onda de emissão e excitação, sendo o conjunto destes dados denominado Matriz de Excitação e Emissão. A Figura 2-9 apresenta um exemplo de cada um destes Espectros de Luminescência Total, onde em (a) é apresentado o espectro de fluorescência total, na forma de um gráfico em três dimensões, e em (b) é apresentado o gráfico de fluorescência total, na forma de curvas de contorno (SKOOG *et al.*, 2007).

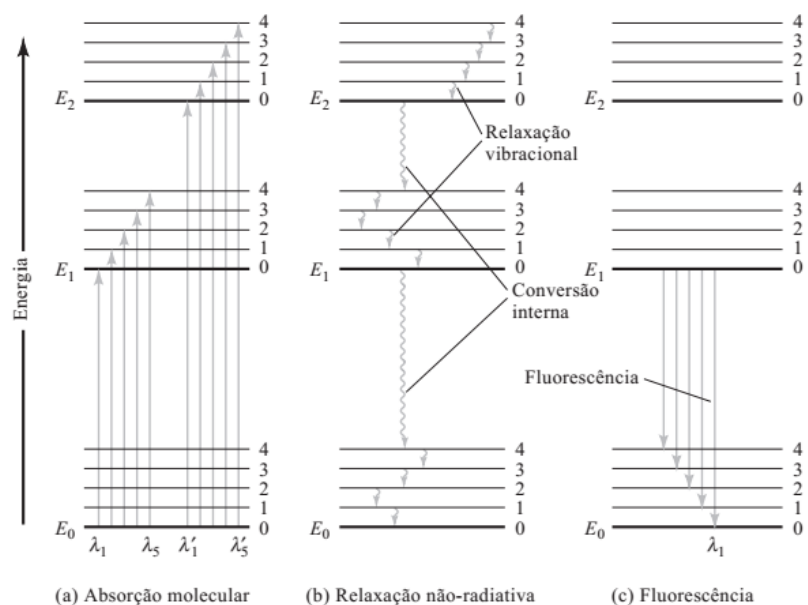


Figura 2-8: Diagrama de níveis de energia mostrando alguns dos processos que ocorrem durante (a) absorção de radiação incidente, (b) relaxação não-radiativa e (c) emissão fluorescente por espécies moleculares. Fonte: SKOOG *et al.* (2007)

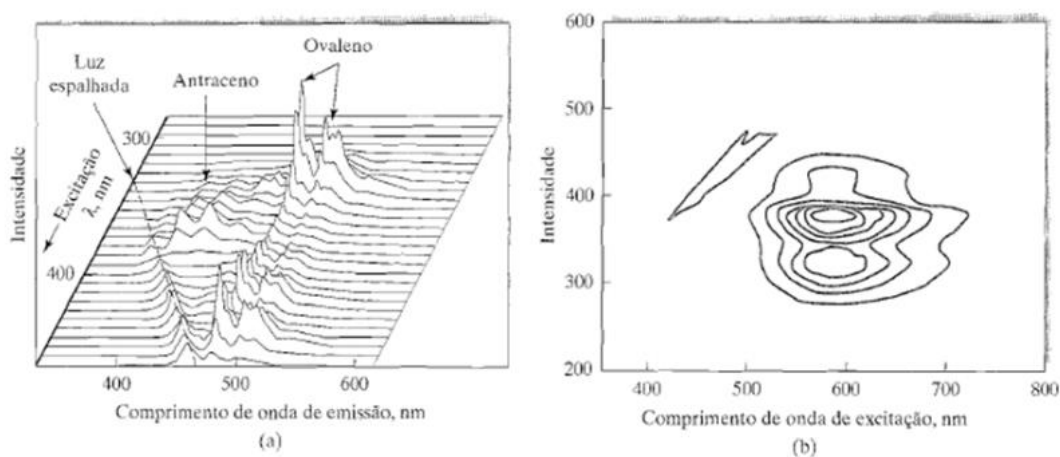


Figura 2-9: Espectros de Luminescência Total para ovaleno e antraceno. Fonte: SURYAWANSHI *et al.* (2016)

A indústria cervejeira pouco utiliza a técnica de espectroscopia por fluorescência, porém de acordo com Gordon (2017), as análises de α -ácidos (presentes no lúpulo) e polifenóis (malte) tem fortes características luminescentes devido suas estruturas químicas, como é demonstrado na Figura 2-10.

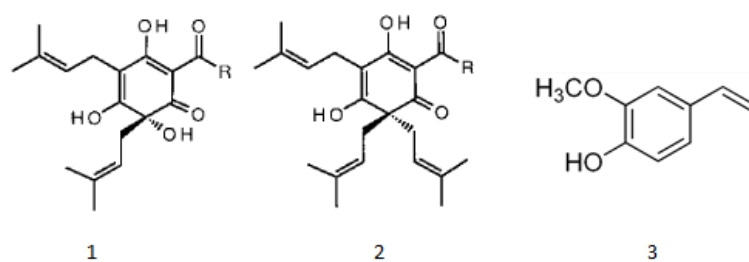


Figura 2-10: (1) α -ácido, (2) β -ácido e (3) 4-vinil-guaiacol

2.6 Quimiometria

Esta seção é referenciada da tese de RANZAN (2014), que aplicou técnicas quimiométricas para análises espectrais.

A quimiometria pode ser definida pela aplicação de fundamentos matemáticos, estatísticos e digitais para planejar experimentos com foco em otimização e também avaliar dados químicos. Para adquirir o máximo de informações presentes nos problemas de estudo, existem métodos quimiométricos, resumidos na Tabela 2-10, que são aplicados em dados multivariados com objetivo qualitativo, como reconhecimento de padrões e análise exploratória, e também quantitativos como regressão multivariada (ORTIZ; SARABIA, 2007).

Tabela 2-10: Principais métodos quimiométricos e aplicações. Adaptado de CORREA, (2012)

Aplicação	Métodos
Análise exploratória de dados químicos	HCA (<i>Hierarchical Cluster Analysis</i>) PCA (<i>Principal Component Analysis</i>)
Calibração multivariada	PCR (<i>Principal Component Regression</i>) PLS (<i>Partial Least Squares</i>) PSCM (<i>Pure Spectra Components Modeling</i>)
Modelos de classificação	KNN (<i>k-Nearest neighbour</i>) SIMCA (<i>Soft Independent modelling of Class Analogy</i>) PLS-DA (<i>PLS for Discriminant Analysis</i>) MLP (<i>Multi-Layers Perceptron</i>)

A Figura 2-11 exemplifica como é o funcionamento do processo de quimiometria, no qual a informação útil é extraída das análises instrumentais com o uso de ferramentas matemáticas.

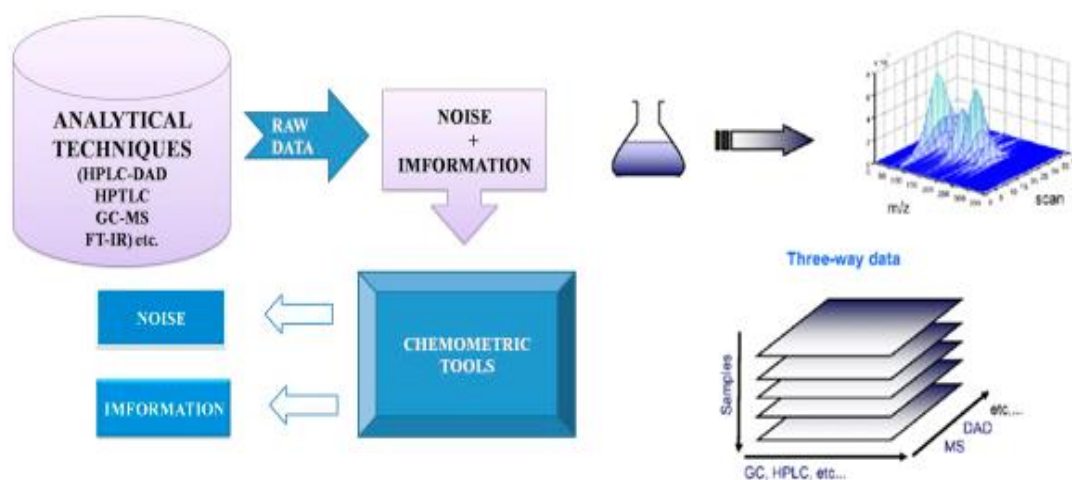


Figura 2-11: Resumo gráfico do método quimiométrico. Adaptado de KUMAR (2014) e ORTIZ (2007)

2.6.1 Standard Normal Variate (SNV)

O método tem como função fazer pré-tratamento associado a matrizes de dados espectrais, ajustando-os para seleção de variáveis e ajustes matemáticos (RANZAN, 2014).

Este método escalona os dados espectrais de forma que após a normalização a média do espectro seja igual a zero e desvio padrão unitário, conforme equação:

$$Z_i = \frac{(y_i - \bar{y})}{s} \quad (1)$$

y_i é a variável a ser normalizada, \bar{y} valor médio e s o desvio padrão

2.6.2 Média Percentual Absoluta do Erro (MAPE)

O método é uma estimativa de tendência, na qual geralmente expressa a acurácia do erro em percentagem e é definida pela equação:

$$M = \frac{100}{n} \sum_{t=1}^n \left| \frac{A_t - F_t}{A_t} \right| \quad (2)$$

A_t é o valor real e F_t o valor previsto. Fonte: DE MYTTENAERE (2015)

2.6.3 Erro da soma dos quadrados (SSE)

É a soma das diferenças quadradas entre cada observação e a média do grupo (HUGUENARD, 2016). Ele pode ser usado como uma medida de variação dentro de um cluster. Se todos os casos dentro de um cluster forem idênticos, o SSE seria igual a 0, definido pela equação:

$$SSE = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad (3)$$

Onde n é o número de observações x_i é o valor observado e \bar{x} é a média de todas as observações. Disponível em: <hlab.stanford.edu/brian/error_sum_of_squares.html>

2.6.4 Análise de Componentes Principais (PCA)

Dentre as análises quimiométricas, a Análise de Componentes Principais (PCA) é uma técnica de redução de dimensionalidade não supervisionada, sendo um método clássico para avaliar medidas multivariadas em análises químicas. Considerada como método quimiométrico mais difundido e significativo para planejamento de experimentos, otimização de condições de processo e também a extração e interpretação de informações químicas relevantes, pois se consegue a partir de um conjunto de dados físico-químicos métodos matemáticos e estatístico extrair tais conclusões, como correlações de similaridade ou diferenças (BRERETON, 2003). A técnica de PCA é simples e possui uma única solução analítica e geralmente leva a uma representação de dados muito simples de ser interpretada. Também tem por objetivo fornecer um mapeamento em poucas dimensões, concentrando a maior parte da informação dos dados originais.

Scores são as coordenadas das amostras em um novo espaço e *Loadings* são novas dimensões em combinações lineares das variáveis originais. *Scores* e *Loadings* referem-se ao termo componente principal. A multiplicação matricial dos *Scores* com a matriz transposta de *Loadings* leva a uma aproximação da matriz original de dados (RANZAN, 2014). A Figura 2-12 demonstra o uso de PCA para uma projeção multivariável, a fim de discriminar genótipos de hortaliças.

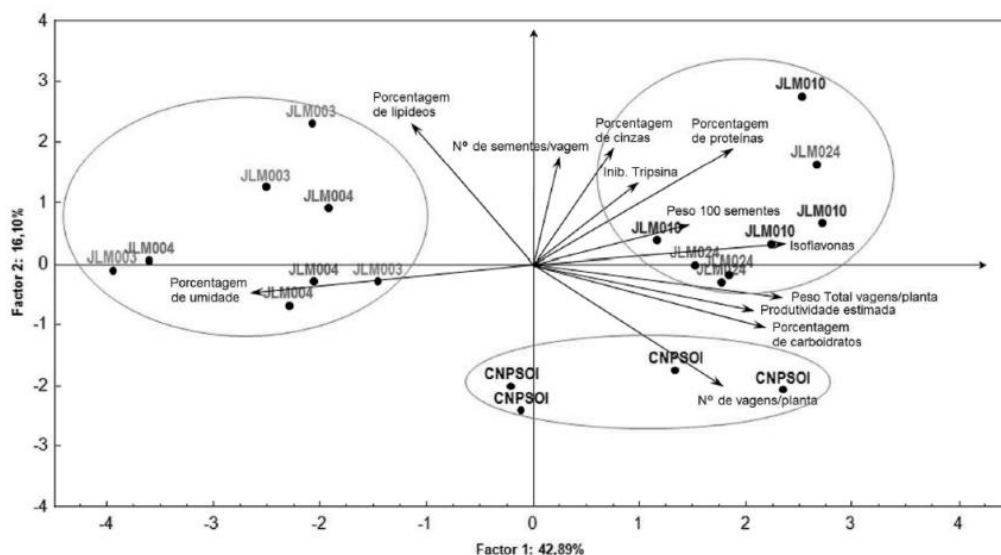


Figura 2-12: Projeção das variáveis nos dois primeiros componentes principais com a discriminação de genótipos de soja- hortaliça. Fonte: TOBAR-TOSSE *et al.* (2015).

2.6.5 Modelagem Quimiométrica com Componentes Espectrais Puros (PSCM)

A metodologia tem como função fazer análise dos dados espectrais e conversões dos mesmos a fim de gerar informações necessárias de processo. O método combina modelagem utilizando regressões multilíneares e seleciona elementos espectrais por métodos de otimização estocástica (RANZAN *et al.*, 2014).

O PSCM utiliza modelos de regressão multilinear (MLR) em conjunto com método de otimização estocástica ACO (*Ant Colony Optimization*). Assim é possível filtrar os elementos espectrais e selecionar os grupos de componentes espectrais com maior correlação com as variáveis de interesse. Essa seleção é então utilizada como variáveis de entrada em modelos multilíneares, que são calibrados e então submetidos a testes para predição das variáveis de interesse.

O método é dividido em quatro fases, na qual a inicial é responsável por inicializar as variáveis necessárias para resolução do problema de otimização. A segunda fase inicializa o vetor de soluções, através da função objetivo com seleção aleatória de um conjunto de elementos espectrais. Terceira fase é o núcleo do algoritmo, onde determina a melhor combinação de elementos espectrais para fins de predição das variáveis. A última fase, classificação qualitativa das regiões espectrais interessadas.

A Figura 2-13 demonstra o esquema do algoritmo PSCM para a resolução do problema de seleção de grupo de elementos espectrais utilizando ACO.

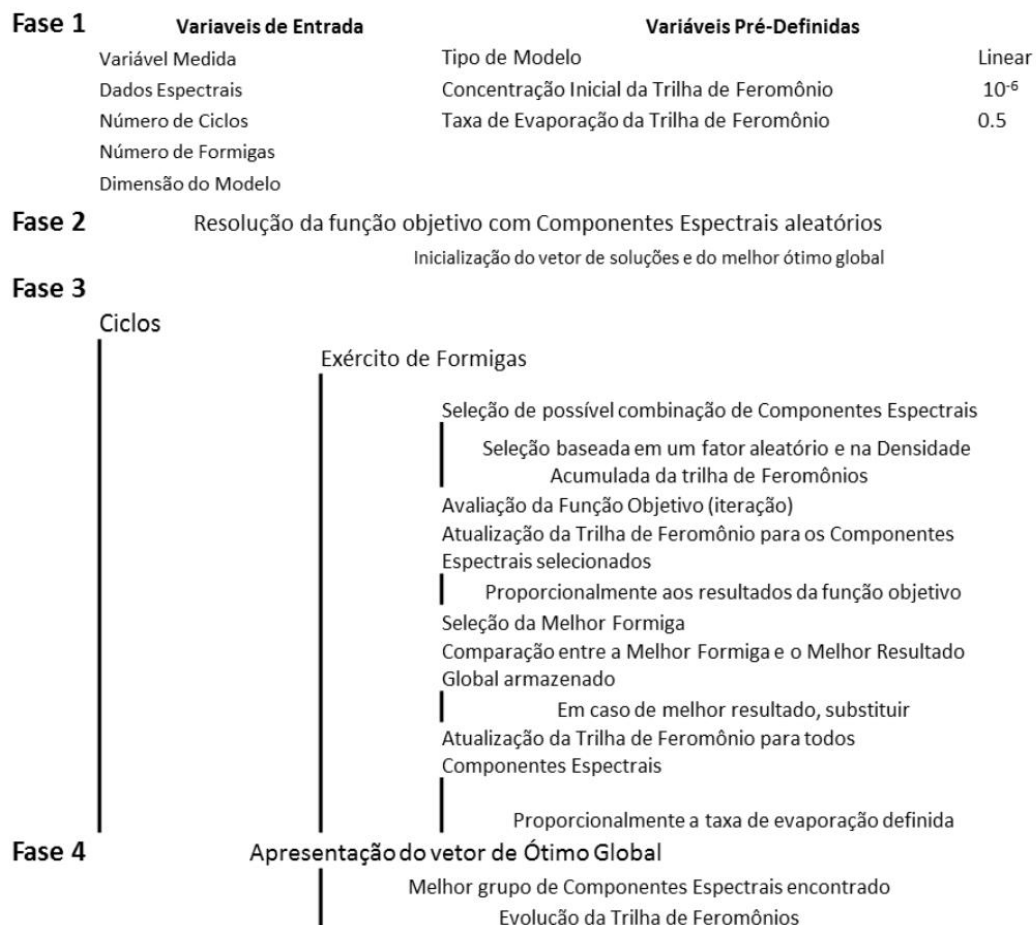


Figura 2-13: Representação esquemática do método ACO para seleção de grupos espectrais. Fonte: (RANZAN *et al.*, 2014)

2.6.6 Perceptron Multicamadas (MLP)

O Perceptron Multicamadas é uma classe de rede neural feedforward com aprendizado supervisionado baseado em retropropagação do erro. Um MLP consiste em pelo menos três camadas de nós. Exceto para os nós de entrada, cada nó é um neurônio que usa uma função de ativação não linear que pode distinguir dados que não são separáveis linearmente. A camada de saída recebe os estímulos das camadas intermediárias e constrói o padrão que será a resposta. As camadas intermediárias funcionam como extratoras de características (classificação). A Figura 2-14 exemplifica uma estrutura MLP, na qual a entrada de informações e camada subsequentes são importantes para a classificação.

O processo de treinamento se dá em duas etapas que são repetidas inúmeras vezes até que um critério de parada seja atendido, que pode ser número de ciclos ou valor do erro. Na primeira etapa são apresentadas amostras com padrões desejáveis e é então calculado um resultado camada a camada até que o resultado final seja gerado na camada de saída. Na segunda etapa é, então, calculado o erro entre a saída da rede e a resposta desejável, e esse erro é retro propagado para as camadas anteriores até que chegue à camada de entrada, de forma a ajustar os pesos sinápticos para redução o erro final (PUMA-VILLANUEVA; DOS SANTOS; VON ZUBEN, 2012).

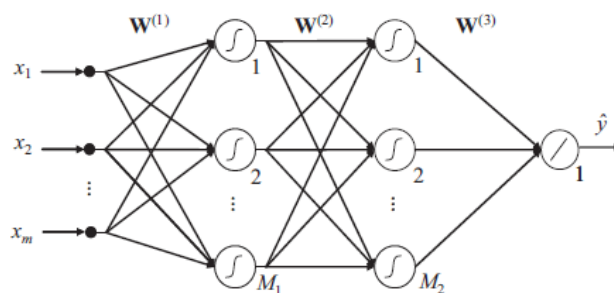


Figura 2-14: Exemplo de entrada de dados em uma estrutura MLP com duas camadas.

Fonte: PUMA-VILLANUEVA; DOS SANTOS; VON ZUBEN (2012)

2.6.7 Matriz de confusão (Plot Confusion)

A matriz de confusão contém um conjunto de números dispostos em linhas e colunas, os quais expressam o número de amostras associadas com um tipo específico de classe em relação à classe temática de referência. As colunas se referem aos dados de referência (classe correta de cada amostra informada ao classificador) e as linhas indicam as classes preditas pelo classificador, obtidas de um processo de reconhecimento de padrões, exemplificados na Figura 2-15. Os valores da diagonal principal da matriz representam as amostras que foram corretamente classificadas e a razão entre a soma destes valores pelo número total de amostras classificadas resulta na exatidão global da classificação. Na última coluna de cada linha podemos ver as porcentagens de acertos e erros das predições para cada classe (por exemplo: quantas amostras preditas como classe 1 eram realmente classe 1). Similarmente, na última linha de cada coluna são apresentados os percentuais de acertos e erros do classificador para as classes corretas (quantas amostras que eram classe 1 foram preditas como classe 1). Os percentuais apresentados na diagonal em azul são um aparato geral da qualidade do classificador: quantas amostras do total foram classificadas corretamente e quantas foram erroneamente classificadas (NUNES, 1990).



Figura 2-15: Matriz de confusão para treino, validação e teste de um classificador. Fonte: (OLIVEIRA, 2000)

3 Materiais e Métodos

O estudo do potencial espectrométrico foi desenvolvido no Laboratório de Controle e Integração de Processos (LACIP) do Grupo de Intensificação, Modelagem, Simulação, Controle e Otimização de Processos (GIMSCOP) do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em conjunto com o laboratório físico-químico de uma cervejaria situada no estado. Portanto, as descrições dos procedimentos estão correlacionadas com a metodologia aplicada a este trabalho.

Foram utilizadas no total 27 amostras, todas do mesmo estilo cervejeiro (*Brazilian Pilsner*), diversificando lotes entre lata e garrafas, de quatro marcas distintas do mesmo fabricante e compradas em quatro supermercados locais distintos. O grupo amostral foram divididos em 2 grupos, pois apenas o grupo 1, representados na Tabela 3-1, continha os resultados físico-químicos de produção da cervejaria. As demais amostras foram segregadas para estudo de classificação.

Tabela 3-1: Sumário das amostras que foram utilizadas quanto ao grupo amostral

Agrupamento	Marca A	Marca B	Marca C	Marca D	Marca E
Grupo 1	A1, A2, A3	B1, B2, B3	C1, C2, C3	D1, D2, D3	-
Grupo 2	A1, A2, A3, A4, A5, A6	B1, B2, B3, B4, B5, B6	C1, C2, C3, C4, C5, C6	D1, D2, D3, D4	E1, E2, E3, E4, E5

As amostras foram identificadas com as letras de A até E de acordo com a marca. Com relação ao Grupo 1, cada amostra foi duplicada para fazer tratamento prévio em banho de ultrassom no equipamento UltraSonic CLEANER SW2000FI, na qual foram separadas devido ao tempo no banho: 30 e 60 minutos. O objetivo desta etapa era eliminar as interferências do CO₂ durante os experimentos (TAN; LI; JIANG, 2015). Demais amostras ficaram no banho por 60 minutos.

3.1 Métodos Experimentais

3.1.1 Análises quantitativas

Na cervejaria foram avaliados os dados físico químicos de produção para cada marca (exclusivamente para o grupo 1), estes dados são de uso liberatório para um produto ir ao mercado, pois precisam atender as leis vigentes. As seguintes análises foram realizadas segundo as normas padronizadas EBC, (2015): álcool, extrato aparente, cor, turbidez e dicetonas vicinais (2,3 butanodiona + 2,3 pentanodiona).

3.1.2 Espectroscopia por Infravermelho

Foi utilizado o espectrofotômetro infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), modelo Frontier FTIR/NIR Spectrometer PerkinElmer, representado na Figura 3-1. Analisou-se a região do infravermelho médio na faixa de 4000-650 cm⁻¹, seguindo o método de análise com uso de suspensão em Nujol (composto de óleo mineral), no modo de transmissão, com aplicação em placa polida de KBr (PAVIA *et al.*, 2010), pois não foi possível identificar previamente as bandas dos grupos funcionais presentes no modo UATR.



Figura 3-1: Equipamento de IR Frontier FTIR/NIR Spectrometer (PerkinElmer)

3.1.3 Espectroscopia por Fluorescência

Os espectros por fluorescência foram obtidos com um equipamento HORIBA Fluoromax®-4, equipado com lâmpada de xenônio de 150W e faixa de emissão e excitação entre 200nm-950nm. A Figura 3-2 ilustra os equipamentos utilizados.



Figura 3-2: (a) Espectrofluorômetro Fluoromax-4 e (b) cubeta de quartzo com caminho óptico de 1cm.

O equipamento consiste basicamente de uma fonte de excitação e dois monocromadores para seleção de comprimento de onda, um de excitação, outro de emissão. A geometria do ângulo da cubeta utilizada para aquisição dos espectros foi de 90°. A cubeta é de quartzo com os quatro lados polidos e caminho óptico de 1cm, sendo utilizada como recipiente para acondicionamento da amostra. Todos os espectros fluorescentes foram medidos em amostras de cerveja não diluídas.

Para a coleta dos espectros por fluorescência, as amostras foram excitadas com comprimentos de onda variando entre 260nm e 600nm e emissão entre 290nm e 850nm, utilizando um incremento de 10nm. Todas as análises foram realizadas em triplicata, aumentando a confiabilidade dos dados.

3.2 Análise Quimiométrica

A análise quimiométrica dos dados de espectroscopia pode ser dividida em três etapas: (i) Análise dos Componentes Principais (PCA) para buscar visualmente evidências de agrupamentos das amostras nos gráficos de Scores; (ii) Execução do algoritmo de otimização PSCM para construção e avaliação de modelos lineares capazes de prever as diversas variáveis de interesse, neste caso os parâmetros e propriedades físico-químicas das cervejas que são normalmente controlados e avaliados nas cervejarias, e (iii) Construção de um classificador MLP capaz de classificar as cervejas corretamente em relação a sua marca de comercialização.

Para a análise PCA, o módulo de decomposição de matrizes ‘*decomposition.PCA*’ da biblioteca de aprendizado de máquina *Scikit-learn* para *Python* foi utilizado - Disponível em: <<http://scikit-learn.org/stable/about.html#citing-scikit-learn>> e (PEDREGOSA *et al.*, 2011). Inicialmente, as 4 amostras do Grupo 1 e suas triplicatas foram analisadas e seus gráficos de Scores plotados. Em uma segunda análise mais abrangente, todas as 27 amostras de cervejas foram estudadas. Os gráficos em 3D dos primeiros, segundo e terceiro PCs foram utilizados para avaliar a evidência de agrupamentos das cervejas de mesma marca.

A metodologia PSCM para construção e otimização de modelos lineares utilizada neste trabalho foi desenvolvida em nosso grupo de pesquisa GIMSCOP (RANZAN *et al.*, 2014). Pela complexidade das análises laboratoriais necessárias, nesta etapa foram avaliadas apenas as 4 amostras do Grupo 1, e as análises foram realizadas e cedidas a este estudo pelo próprio laboratório da cervejaria que nos proporcionou as amostras. As análises realizadas são as mesmas realizadas comumente na empresa para o controle de qualidade dos lotes antes do envase.

Dada a pequena quantidade de amostras, cada uma das cervejas foi dividida em 3 alíquotas que tiveram seus espectros coletados. Assim, trabalhamos com 12 pontos amostrais, onde cada ponto da mesma marca possuía as mesmas características físico-químicas.

O grupo total foi dividido entre calibração e teste (65% - 35%), e os modelos lineares foram otimizados e testados usando entre 1 e 3 variáveis espectrais (pares Ex/Em para fluorescência e Número de Onda para NIR). Os melhores modelos preditores foram selecionados de acordo com a metodologia original: aqueles que apresentaram a melhor relação entre as métricas de calibração e teste.

Por fim, um classificador MLP foi ajustado para avaliar a capacidade de classificação das amostras de cerveja por marca. Para tal, utilizamos o módulo ‘*neural_network.MLPClassifier*’ da biblioteca *Scikit-learn*.

A primeira etapa necessária foi a otimização dos parâmetros do classificador para nosso estudo. Uma busca exaustiva foi realizada em uma enorme combinação de parâmetros e os melhores foram selecionados por validação cruzada e análise do percentual de erro.

Em posse dos parâmetros, construímos uma rede de avaliações para tentar minimizar as influências de amostras específicas e também do ponto de inicialização do MLP que pode comprometer os resultados.

Inicialmente, o grupo total de 27 amostras foi dividido em 10 grupos de calibração/teste (20 – calibração e 7 – teste), onde as proporções de 65%-calibração/35%-teste foram mantidas para cada marca, assim garantindo que não fosse possível todas as amostras de uma mesma marca ficarem só no subgrupo de calibração ou teste.

Para cada um dos 10 subgrupos, 100 classificadores MLP com os mesmos parâmetros foram calibrados e testados.

Todos os resultados de predição das mil avaliações foram concatenados, e assim foi possível avaliar a capacidade da metodologia em classificar as amostras de cerveja de modo independente de influências. Os resultados foram organizados em matrizes de confusão, que destacam as proporções de acertos e erros para cada classe.

4 Resultados

Os resultados são demonstrados com a seguinte segmentação: (i) análises laboratoriais (ii); Metodologias Não Assistidas - com uso de PCA; (iii) Construção do classificador MLP, e (iv) Metodologias Assistidas - por meio de PSCM.

4.1.1 Análises laboratoriais

Os objetivos destas análises, Figura 4-2, foram determinar as propriedades físico-químicas das cervejas, ou seja, ter base de dados para construir o modelo de classificação e determinar que tipos de cervejas se tratam do ponto de vista do modelo quimiométrico, assim como, prever as variáveis de interesse relacionadas a cada análise abaixo.

Tabela 4-1: Resultados experimentais realizados na cervejaria das amostras do Grupo 1

Análises	A	B	C	D
Álcool (% v/v)	4,87	4,42	4,77	4,59
Ext. Aparente (°P)	2,16	2,20	2,43	2,15
Cor (EBC)	5,66	5,23	5,92	5,01
Turbidez (EBC)	0,40	0,49	0,40	0,47
2,3 Butanodiona (ppb)	20,98	20,90	18,44	20,68
2,3 Pentanodiona (ppb)	7,69	6,15	9,08	12,15
Dicetonas Totais (ppb)	28,67	27,05	27,51	32,83

Ao realizar as análises de infravermelho, Figura 4-1, e fluorescência, Figura 4-2, levou-se em consideração o tempo de banho em ultrassom, a fim de diminuir todo e qualquer efeito que afetasse a confiabilidade das análises quimiométricas aqui demonstradas. Foram constatadas diferenças entre amostras de 30 e 60 minutos no banho de ultrassom, porém não foi conclusiva, pois houveram muitas diferenças comparando cada amostra. Optou-se então por dar sequência ao trabalho com amostras com mais tempo de pré-tratamento para a remoção de CO₂.

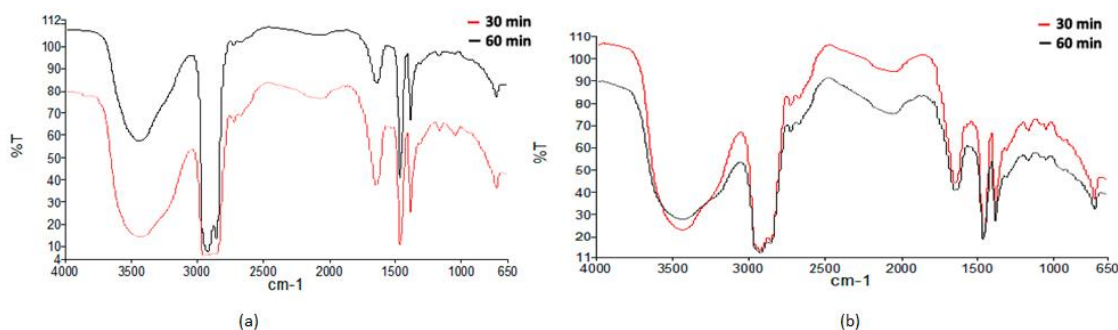


Figura 4-1: Sobreposição de espectros de infravermelho das amostras (a) B1 e (b) C3 de 30 e 60 minutos em banho de ultrassom

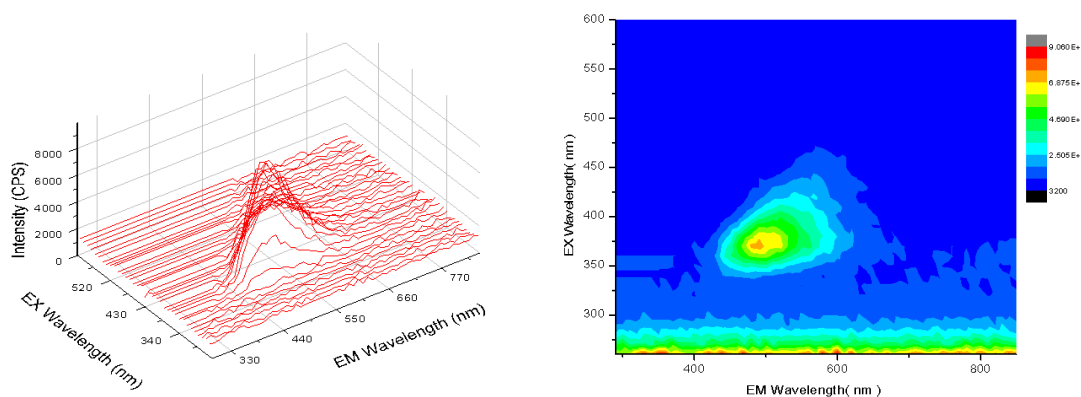


Figura 4-2: Espectros de fluorescência da amostra A1 com 60min em ultrassom

As análises de NIR, Figura 4-3, foram importantes, pois conseguiu-se analisar e caracterizar os principais grupos funcionais nas amostras presentes. Visto que o modelo do etanol com NIR selecionou bem comparando os espectros da água e etanol, segregando de maneira eficiente em regiões de picos onde se diferenciam.

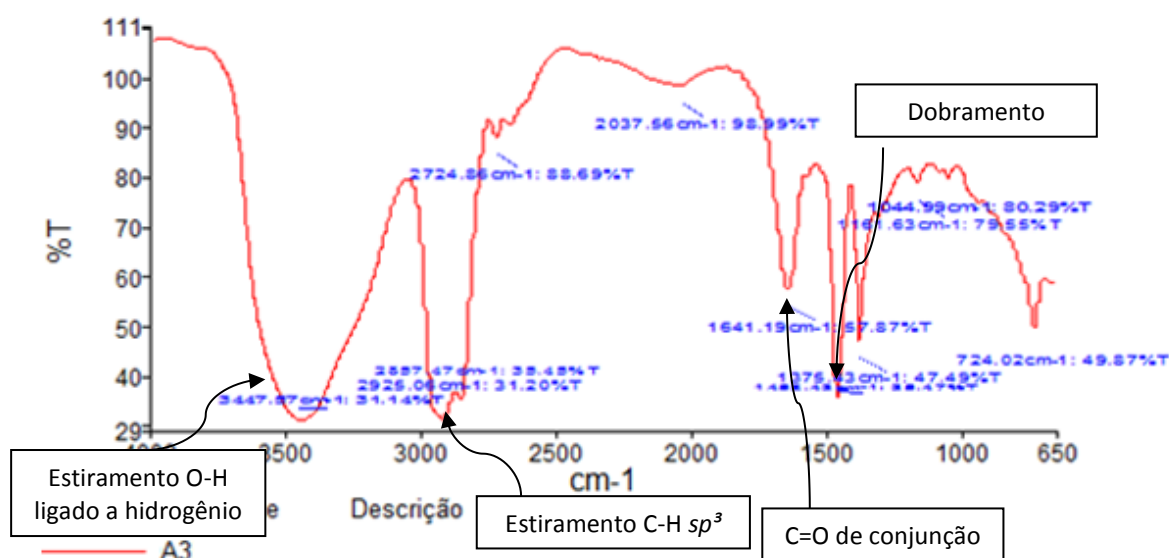


Figura 4-3: Gráfico do espectro da amostra A3 com 60 minutos em ultrassom, com respectiva análise espectral

4.1.2 Metodologias Não Assistidas (PCA)

Para maior entendimento, os resultados aqui apresentados sobre a classificação de cervejas foram segmentados conforme o tipo de análise realizada. A primeira apresentará os resultados obtidos com as análises PCA com dados espectrométricos de infravermelho e fluorescência para o Grupo 1 e posteriormente análises do PCA para o Grupo amostral 2.

Primeiramente foi realizado amostragem com o Grupo 1 em triplicata para estudo preliminar do potencial espectrométrico na classificação de cervejas. O primeiro modelo de reconhecimento foi construído usando PCA. Para isso, foi realizado previamente o pré-tratamento dos dados utilizando o método SNV, onde foi possível reduzir a dimensionalidade dos dados, tanto para amostras com pré-tratamento em 30min e 60min em ultrassom.

As análises do grupo 1 realizadas com dados de infravermelho, Figura 4-4, e fluorescência, Figura 4-5, apresentaram resultados satisfatórios quando ao grupamento das amostras **A**, **B**, **C** e **D**, pois tem bom grupamento amostral com a técnica PCA. Também é possível observar diferença das amostras com 30 e 60 minutos em ultrassom, isso deve-se ao efeito do CO₂ nas análises realizadas, principalmente na fluorescência, porém não foi possível concluir qual o método espectrométrico seria melhor sob o efeito do CO₂.

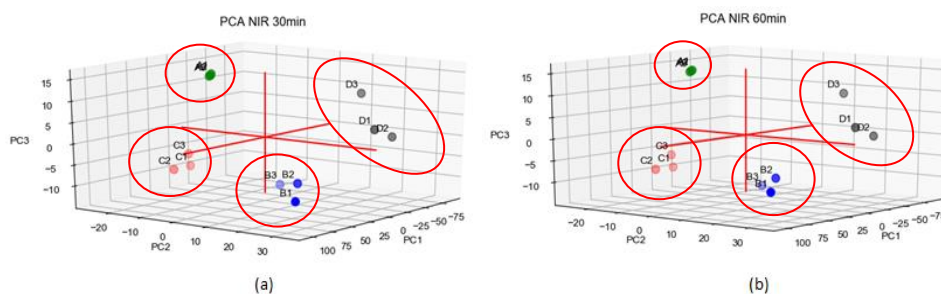


Figura 4-4: Gráfico de Escores do conjunto de amostras de cervejas em NIR, ressaltando a formação de possíveis grupos de amostras, (a) amostra com pré-tratamento de 30min em ultrassom e (b) 60min.

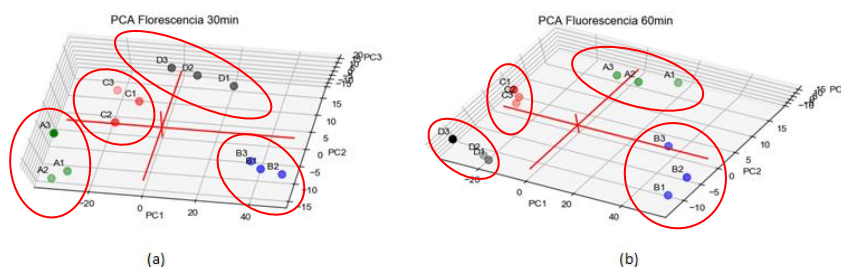


Figura 4-5: Gráfico de Escores dos dados adquiridos por fluorescência, ressaltando a formação de possíveis grupos amostrais, (a) amostra com pré-tratamento de 30min em ultrassom e (b) 60min.

Ao analisarmos o grupo 2, do ponto de vista da Figura 4-6 (PC1 x PC3), consegue-se fazer distinção entre as classes **C**, **B** e **E**, porém não com o mesmo nível de agrupamento da análise anterior. Já o resultado com as amostras **A** e **D**, fica evidenciado que são necessárias mais amostras para validação do método.

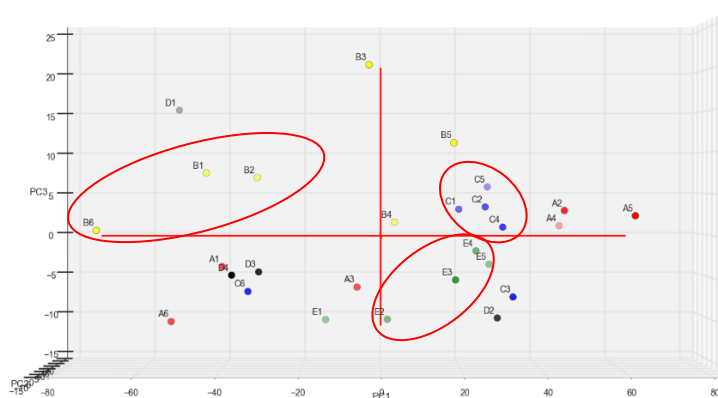


Figura 4-6: Gráfico de Escores dos dados adquiridos por fluorescência pertencentes ao grupo 2

4.1.3 Classificador MLP

Ao concluir que o método PCA não foi efetivo ao realizar o agrupamento visual de amostras, foi realizado então uma nova abordagem por técnica não linear com uso de MLP, na qual foram realizadas mil avaliações. Para a realização desta técnica optou-se por utilizar as amostras da classe **E** como parte da classe **A**, para aumentar o número amostral na tentativa de diminuir o erro da predição, pois as amostras apresentam as mesmas características físico-químicas. Ao total ficaram 11 amostras da classe **A**, 6 **B**, 6 **C** e 4 **D**.

O resultado da otimização inicial dos parâmetros do classificador indicou o uso de três camadas intermediárias na rede, com 100, 50 e 10 neurônios cada, respectivamente. A função de ativação escolhida para os neurônios foi a tangente hiperbólica.

A Figura 4-7 apresenta as matrizes de confusão para os grupos de treino e teste, onde todas as predições das 1000 rodagens foram concatenadas.

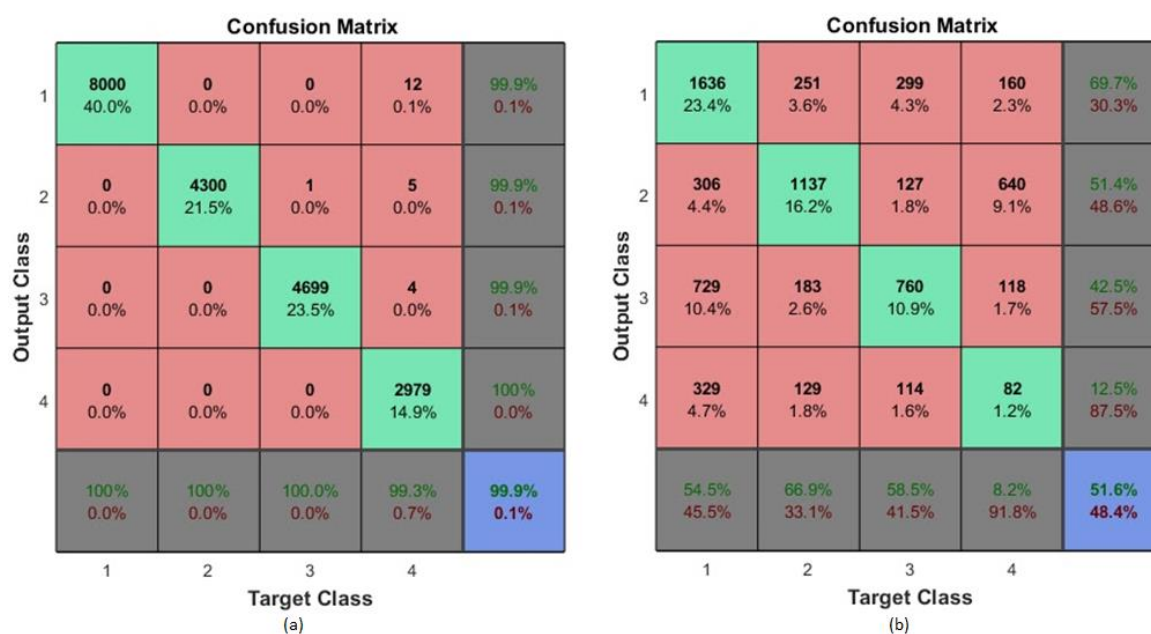


Figura 4-7: Matrix de Confusão para o treino (a) e teste (b), no eixo X tem-se a classe real, e em Y a classe predita

As amostras da classe D apresentaram os piores resultados como consequência da pequena quantidade amostral, pois não foi encontrado variedades de diferentes lotes no mercado. Ao término do teste obteve-se um resultado de score do treino de 0,9989 e para o teste 0,5164, Figura 4-7, na qual observa-se que os dados de treino foram bem ajustados pela técnica. Os dados de teste por sua vez não apresentaram as mesmas métricas de qualidade do treino, apresentando percentuais de correta classificação muito baixos. Com base nestes resultados, podemos perceber que existe um bom potencial da metodologia proposta para predizer as classes das cervejas com o uso combinado de fluorescência e classificadores MLP, porém, com a base de dados utilizada neste estudo, não fomos capazes de atingir modelos robustos que garantissem boa acurácia tanto no grupo de treino quanto no grupo de teste. Para trabalhos futuros, uma maior quantidade amostral pode ser benéfica para a melhora dos resultados de predição.

4.1.4 Metodologias Assistidas (PSCM)

Complementando o estudo sobre o potencial da utilização de espectroscopia para classificação de cervejas, foi então empregado o método PSCM para predição quantitativa das características físico-químicas das amostras. Para avaliar este estudo usou-se as métricas de MAPE e R^2 , como características da qualidade dos modelos.

A partir dos resultados da análise PSCM é então realizada a avaliação da eficiência da metodologia para determinação da concentração. Logo, foram formados grupos amostrais para ajustes dos modelos multilíneares, tanto para fluorescência, quanto para infravermelho. Demais amostras foram usadas para os testes de predição das concentrações requeridas. A partir do método assistido, foram gerados modelos usando 1 a 3 pares, na qual foram escolhidos para representar, Tabela 4-2 para fluorescência e Tabela 4-3 para infravermelho, os melhores modelos para cada saída, sendo o melhor modelo escolhido aquele que apresenta a menor soma dos erros quadráticos.

Tabela 4-2: Pares da fluorescência selecionados por PSCM e valores das métricas para avaliação dos melhores modelos para cada saída

Saídas	Pares selecionados	R^2 treino	R^2 teste	MAPE treino	MAPE teste
Alcool	Ex340/Em520, Ex470/Em730	0,6970	0,9992	1,6000	0,3028
Ext. Aparente	Ex490/Em550	0,7083	0,6521	2,3865	2,7466
Cor	Ex460/Em850, Ex540/Em780	0,9718	0,9931	2,9572	0,9148
Turbidez	Ex550/Em680	0,7753	0,7182	2,8217	3,8291
2,3 Butanodiona	Ex370/Em650, Ex420/Em710	0,7116	0,8875	2,1899	0,9479
2,3 Pentanodiona	Ex320/Em370, Ex530/Em580	0,9414	0,9474	4,5120	5,3386
Dicetonas Totais	Ex320/Em370	0,6339	0,7398	4,6007	2,2113

Tabela 4-3: Bandas do espectro de infravermelho selecionados por PSCM e valores das métricas para avaliação dos melhores modelos para cada saída

Saídas	Comprimento de onda	R^2 treino	R^2 teste	MAPE treino	MAPE teste
Alcool	[1280.0]	0,8208	0,9329	1,3975	0,7299
Ext. Aparente	[3853.0, 3938.0]	0,6147	0,7031	2,4945	0,4499
Cor	[3950.0, 3951.0]	0,7799	0,9517	2,3177	1,8091
Turbidez	[919.0, 1052.0, 3075.0]	0,9318	0,9341	2,0114	2,0859
2,3 Butanodiona	[1147.0, 3999.0]	0,8729	0,9584	1,7378	1,0505
2,3 Pentanodiona	[1404.0, 3827.0, 3856.0]	0,9490	0,9801	4,9621	4,0064
Dicetonas Totais	[3447.0, 3948.0, 3954.0]	0,6584	0,6847	3,1047	1,1420

Baseado nos resultados obtidos pelas métricas observadas, a metodologia PSCM com dados de infravermelho apresentaram melhores modelos comparadas com fluorescência, pois tiveram coeficientes de R^2 superiores a 0,9 e com uma margem de erro MAPE aceitável. Deve-se considerar o fato de que a quantidade amostral estudada era pequena, dificultando o ajuste dos modelos, porém os resultados são promissores para futuros estudos. As propriedades que apresentaram as melhores métricas de predição foram: álcool, turbidez, cor, 2,3 butanodiona e 2,3 pentanodiona.

5 Conclusões e Trabalhos Futuros

O uso de novas tecnologias vem se mostrando de extrema importância para a indústria cervejeira ao longo dos anos. O uso de métodos quimiométricos serão necessários para obter-se produtos de melhor qualidade, resultado de um forte investimento em controle de qualidade, que será compensado em eficiência e redução de custo ao longo da cadeia produtiva.

Considerando a complexidade e variedade de moléculas encontradas nas cervejas, foi possível avaliar de maneira qualitativa as primeiras amostras e corretamente as classificar, mesmo com um número ainda reduzido de amostras. Porém, quando se aumentou o número amostral dos testes, chegou-se a resultados com erro médio de 48,4% a níveis de classificação, concluindo que erros desta magnitude não possam ser utilizados com objetivo de classificação em cervejas. Em contrapartida, os treinos apresentaram resultados promissores, demonstrando a necessidade de um maior número de amostras para tornar o modelo mais robusto. Assim como o método PCA, o modelo preditivo e quantitativo PSCM também merece atenção, pois também demonstrou ser promissor, com resultados preditivos efetivos quanto a teor alcoólico, turbidez e cor.

Para trabalhos futuros, deve-se aumentar o número de amostras e acrescentar estilos cervejeiros para avaliar o potencial de classificação da metodologia. Os compostos de maior interesse para predição em estudos futuros são as Dicetonas totais (Vicinais). Existe um grande interesse no mercado por novas tecnologias e medidas instrumentais com maior praticidade e velocidade quanto a sua quantificação, e a metodologia apresentada neste trabalho se mostrou promissora para tal.

Referências

- AQUARONE, E. "Biotecnologia Industrial na produção de Alimentos". São Paulo, Editora Blucher LTDA, 2001.
- BRASIL. Decreto nº6871 de 4 de Junho de 2009.
- BRERETON, R. G. "Chemometrics : data analysis for the laboratory and chemical plant". 1 ed. Michigan: Wiley, 2003.
- BRIGGS, D. E. DENNIS E. "Brewing : science and practice". CRC Press, 2004.
- CERVBRASIL. Anuário 2016. Associação brasileira da indústria da cerveja, p. 1–62, 2016.
- CORREA, C. "Avaliação do uso de espectroscopia no infravermelho para controle e garantia da qualidade da mistura biodiesel/diesel usando cartas de controle multivariadas". Universidade federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2012.
- DE MYTTENAERE, A. et al. "Using the Mean Absolute Percentage Error for Regression Models". 12 jun. 2015.
- EBC ANALYSIS COMMITTEE.; "European Brewery Convention". Analytica-EBC. Hans Carl, 2015.
- GOLDAMMER, T. "The brewer's handbook : the complete book to brewing beer. Apex Publishers", 2008.
- GORDON, R.; COZZOLINO, D.; ROBERTS, J. J. "Analysis of Australian Beers Using Fluorescence Spectroscopy". Beverages, v. 3, n. 4, p. 57, 2017.
- HUGUENARD, J. "Error Sum of Squares". Disponível em:
<https://hlab.stanford.edu/brian/error_sum_of_squares.html>. Acesso em: 6 jan. 2018.
- KUMAR, N. et al. "Chemometrics tools used in analytical chemistry: An overview". Talanta, v. 123, p. 186–199, jun. 2014.
- KUNZE, W. "Technology Brewing and Malting". Berlin, Germany. VLB, 1999.
- MEILGAARD, M. C.; DALGLIESH, C. E.; CLAPPERTON, J. F. "Beer Flavour terminology". Journal of the Institute of Brewing, v. 85, n. 1, p. 38–42, 2 jan. 1979.
- NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. 2,3-Butanedione Infrared Spectrum. Disponível em:
<<http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C431038&Type=IR-SPEC&Index=0>>. Acesso em: 2 jan. 2018.

- NUNES, J. O. R. "Aplicação e avaliação de uma rede neural artificial para escolha de áreas para aterro sanitário". Revista Formação, v. 1, p. 113–125, 1990.
- OLIVEIRA, V. P. L. DE. "Redes neurais artificiais e K-médias em um modelo híbrido alternativo para a classificação de clientes em aprovação de créditos". Universidade Federal de Goiás, v. 1, p. 8, 2000.
- ORTIZ, M. C.; SARABIA, L. "Quantitative determination in chromatographic analysis based on n-way calibration strategies". Journal of Chromatography A, v. 1158, n. 1–2, p. 94–110, jul. 2007.
- PAVIA, D. L. et al. "Introdução à espectroscopia". 4. ed. CENGAGE, 2010.
- PEDREGOSA, F. et al. "Scikit-learn: Machine Learning in Python". Journal of Machine Learning Research, v. 12, n. Oct, p. 2825–2830, 2011.
- RANZAN, C. "Desenvolvimento de modelos quimiométricos utilizando algoritmo de otimização colônia de formigas". Universidade federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2014.
- RANZAN, C. et al. "Wheat flour characterization using NIR and spectral filter based on ant colony optimization. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems", v. 132, p. 133–140, 2014.
- RANZAN, L. "Estudo da viabilidade do uso de espectroscopia por fluorescência 2D para quantificar teor de enxofre em óleo diesel". Universidade federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2014.
- REINOLD, M. R. "Manual Prático de Cervejaria". São Paulo, Brasil. ADEN Editora e Comunicações Ltda., 1997.
- SILEONI, V.; MARCONI, O.; PERRETTI, G. "Near-infrared Spectroscopy in the Brewing Industry". Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 55, n. 12, p. 1771–1791, 2015.
- SILVA, F.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; TEIXEIRA, "N. Polipeptídeos e proteínas com influência na qualidade da espuma da cerveja e métodos analíticos utilizados no seu estudo". Quimica Nova, v. 29, n. 6, p. 1326–1331, 2006.
- SKOOG, D. A. et al. "Fundamentos de química analítica". Pioneira Thomson Learning, 2007.
- SURYAWANSHI, V. D. et al. "Spectroscopic analysis on the binding interaction of biologically active pyrimidine derivative with bovine serum albumin". Journal of Pharmaceutical Analysis, v. 6, n. 1, p. 56–63, 1 fev. 2016.

- TAN, J.; LI, R.; JIANG, Z. T. "Chemometric classification of Chinese lager beers according to manufacturer based on data fusion of fluorescence, UV and visible spectroscopies. Food Chemistry", v. 184, p. 30–36, 2015.
- TOBAR-TOSSE, D. E. et al. "Caracterização de genótipos de soja-hortaliça por análise de componentes principais". Ciência Rural, v. 45, n. 7, p. 1214–1219, jul. 2015.
- VENTURINI FILHO, W. G.; NOJIMOTO, T. "Aproveitamento da água de umidificação de malte da moagem úmida como matéria prima na fabricação de cerveja". Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 19, n. 2, p. 174–178, maio 1999.
- WANG, L. et al. "Quality analysis, classification, and authentication of liquid foods by near-infrared spectroscopy: A review of recent research developments". Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 57, n. 7, p. 1524–1538, 2017.
- PUMA-VILLANUEVA, W. J.; DOS SANTOS, E. P.; VON ZUBEN, F. J. "A constructive algorithm to synthesize arbitrarily connected feedforward neural networks".